

Dottorato di ricerca in:
“La patologia vascolare del distretto testa-collo”
XX ciclo
Coordinatore: prof. Lucio Rucci

**VALUTAZIONE DI ALCUNI FATTORI
DI RISCHIO VASCOLARI
NEL GLAUCOMA A TENSIONE
NORMALE**

Candidato: dott. Barbara Giambene

Relatore: prof. Ugo Menchini

Correlatore: prof. Fernando Galassi

INTRODUZIONE

“Il glaucoma primario ad angolo aperto (GPAA) è una neuropatia ottica su base multifattoriale in cui sono presenti caratteristiche perdite delle fibre del nervo ottico”. La definizione stabilita dall’American Academy of Ophthalmology afferma che il GPAA è un’otticopatia cronica progressiva “sensibile alla pressione intraoculare (PIO)”³. Secondo tale definizione le caratteristiche peculiari del glaucoma riguardano uno specifico “aspetto del disco ottico o dello strato nervoso delle fibre retiniche”.

La classica triade diagnostica costituita da ipertensione oculare, escavazione della papilla ottica, e tipici difetti perimetrici non è più attuale. Infatti, la pressione intraoculare non è più valutata in valore assoluto, bensì in rapporto ad una sensibilità individuale del nervo ottico. La PIO elevata è attualmente considerata il più importante fattore di rischio per lo sviluppo e la progressione del glaucoma. Inoltre, il glaucoma nelle fasi iniziali è caratterizzato da alterazioni papillari in presenza di campi visivi normali, cosicché la presenza di difetti perimetrici non è più fondamentale per la diagnosi.

Il momento patogenetico fondamentale è la perdita di cellule ganglionari retiniche (CGR), che avviene in maniera progressiva per l’azione di molti fattori che rivestono un’importanza differente nelle varie forme di glaucoma e nei singoli pazienti. Le CGR vanno incontro ad una morte cellulare programmata, l’apoptosi. Essa può essere provocata sia da un aumento della PIO che da una riduzione dell’apporto ematico al nervo ottico. L’ipertono oculare può infatti causare di per sé un’ischemia della testa del nervo ottico (TNO), ma un’insufficiente perfusione di tale struttura può anche essere primitiva.

Esistono due teorie patogenetiche del glaucoma, la meccanica, spiegata dagli effetti compressivi della pressione intraoculare sulle fibre nervose e sui tessuti circostanti, e la vascolare, spiegata dall’ischemia della testa del nervo ottico conseguente alla presenza di fattori circolatori sistemici e locali quali l’ipotensione arteriosa, il vasospasmo, ed i deficit di perfusione distrettuale. La gestione dei soggetti con glaucoma o con sospetto glaucoma è stata modificata dalle recenti acquisizioni riguardo l’eziopatogenesi della malattia. L’iter diagnostico ed il *follow-up* devono essere improntati alla valutazione dei fattori meccanici e vascolari.

Nella presente trattazione si fa riferimento al glaucoma primario ad angolo aperto, che costituisce oltre il 90% del totale dei glaucomi, ed in particolare alla variante a tensione normale (GTN), nella quale l’interrelazione tra fattori meccanici e vascolari è cruciale. Negli ultimi due decenni, infatti, l’attenzione della comunità scientifica riguardo il glaucoma, soprattutto la forma normotensiva, è stata indirizzata non solo verso i fattori meccanici, ossia la pressione intraoculare, ma anche verso

altri fattori rilevanti sotto il profilo patogenetico. Tra di essi, i fattori vascolari hanno assunto un'importanza via via maggiore, visti i risultati di molti studi clinici che hanno messo in luce il ruolo di alcuni parametri vascolari sistemici e locali che possono determinare una ridotta perfusione della testa del nervo ottico contribuendo così all'insorgenza ed alla progressione dell'otticopatia glaucomatosa.

Queste recenti acquisizioni sulla fisiopatologia del glaucoma non sono puramente speculative, ma hanno un risvolto clinico potenzialmente molto rilevante, in quanto costituiscono le basi teoriche per la sintesi di farmaci antiglaucomatosi attivi sui fattori vascolari da utilizzare in associazione con i farmaci ipotonizzanti per ottenere una gestione ottimale dei pazienti affetti da glaucoma.

La decisione di condurre la presente ricerca è stata ispirata dalla convinzione che i fattori vascolari abbiano una reale importanza patogenetica nel glaucoma a tensione normale. La ricerca vuole quindi essere un contributo al raggiungimento di una migliore comprensione delle peculiarità fisiopatologiche di una malattia diffusa e clinicamente impegnativa qual è il glaucoma normotensivo.

ANATOMIA CLINICA: circolazione della testa del nervo ottico ^{59, 75, 93}

Il sistema vascolare oculare prende origine dall'arteria carotide interna, un ramo della quale, l'arteria oftalmica, è responsabile della vascolarizzazione dell'intero bulbo oculare suddividendosi in rami che irrorano le varie strutture bulbari. Per quanto concerne la testa del nervo ottico, l'apporto ematico è fornito in maniera pressoché esclusiva dalle arterie ciliari posteriori brevi, con un minimo contributo da parte dell'arteria centrale della retina (figura 1). Questi vasi possono essere valutati, in termini di morfologia e caratteristiche di flusso ematico, mediante ecocolorDoppler (ECD).

Le circa 20 arterie ciliari posteriori brevi (ACPB) nascono dal tratto dell'arteria oftalmica posto inferiormente al nervo ottico, sfioccandosi da due tronchi comuni, uno mediale e l'altro laterale, di diametro pari a 0.3-0.5 mm, che decorrono ai lati del nervo ottico. Nei pressi della papilla ottica i due tronchi si dividono nelle ACPB, che penetrano nella sclera e si anastomizzano tra loro andando a costituire nel 20% dei soggetti normali il circolo di Zinn-Haller (figure 2 e 3). Le ACPB si ramificano quindi nello strato vascolare della coroide, che irrori gli strati più esterni della retina e la testa del nervo ottico. L'arteria centrale della retina (ACR) è un ramo terminale dell'arteria oftalmica. Nasce da quest'ultima in vicinanza dell'apice orbitario e decorre parallelamente al nervo ottico per poi penetrarvi e disporsi al centro di esso e giungere infine alla papilla ottica, dove si divide nei rami deputati ad irrorare gli strati più interni della retina.

Nella circolazione della testa del nervo ottico si considerano quattro strati, in riferimento topografico alla lamina cribrosa. Allo strato superficiale affluiscono arteriole retiniche e vasi della zona prelaminare; allo strato prelaminare giungono rami delle arterie coroideali peripapillari, rami delle arterie cilioretiniche, e vasi provenienti dalla regione laminare; nello strato laminare la vascolarizzazione è dovuta a rami delle ACPB, le anastomosi tra le quali vanno a formare il circolo di Zinn-Haller, fulcro della vascolarizzazione della testa del nervo ottico (figure 3 e 4); nello strato retrolaminare sono presenti rami delle arterie coroideali peripapillari e rami centrifughi dell'ACR.

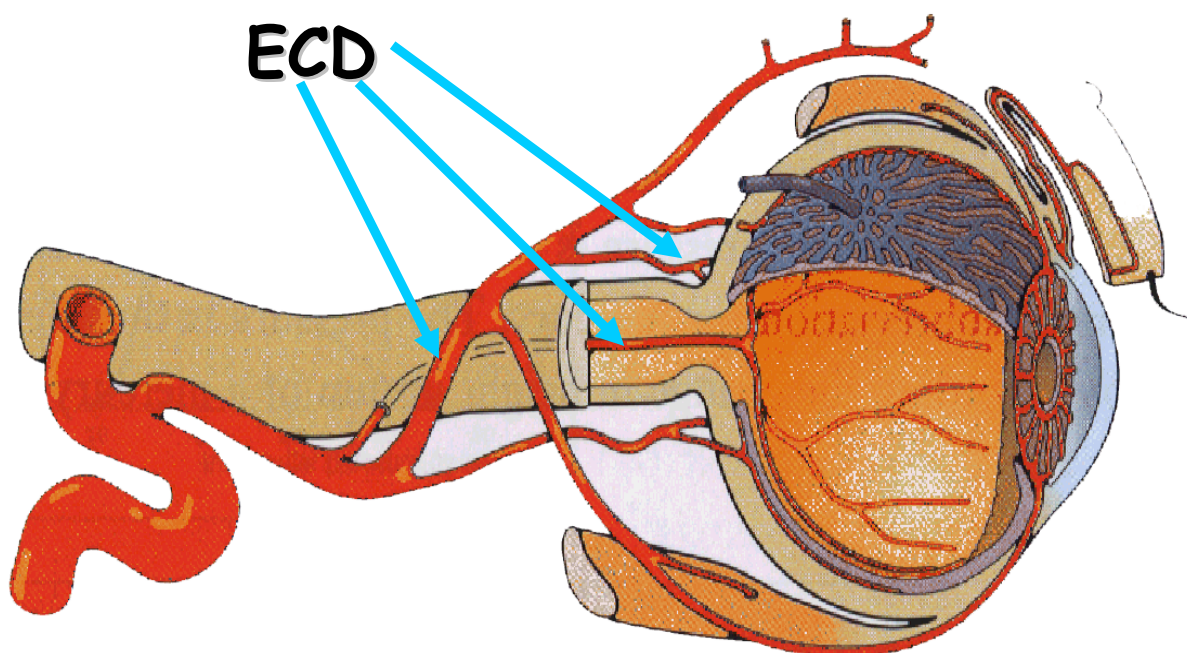


Figura 1 Circolazione arteriosa retrobulbare (schema, riprodotto con autorizzazione dell'Autore, da: Flammer J, "Glaucoma", 2000).



Figura 2 Arterie ciliari posteriori brevi (pezzo autoptico, riprodotto per gentile concessione del professor E. Carella).

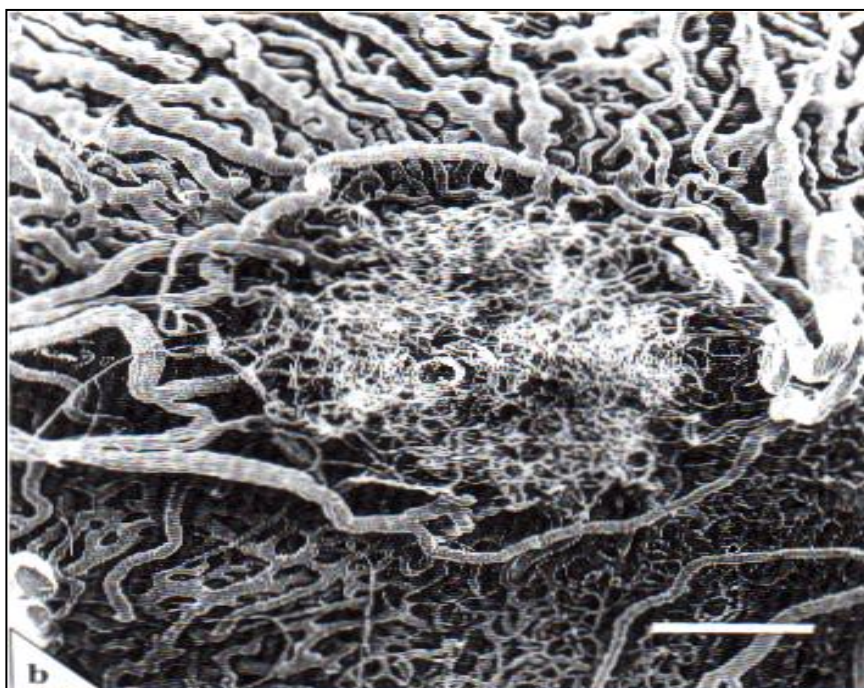


Figura 3 Circolo arterioso di Zinn-Haller (microscopia elettronica, riprodotta per gentile concessione del professor E. Carella).

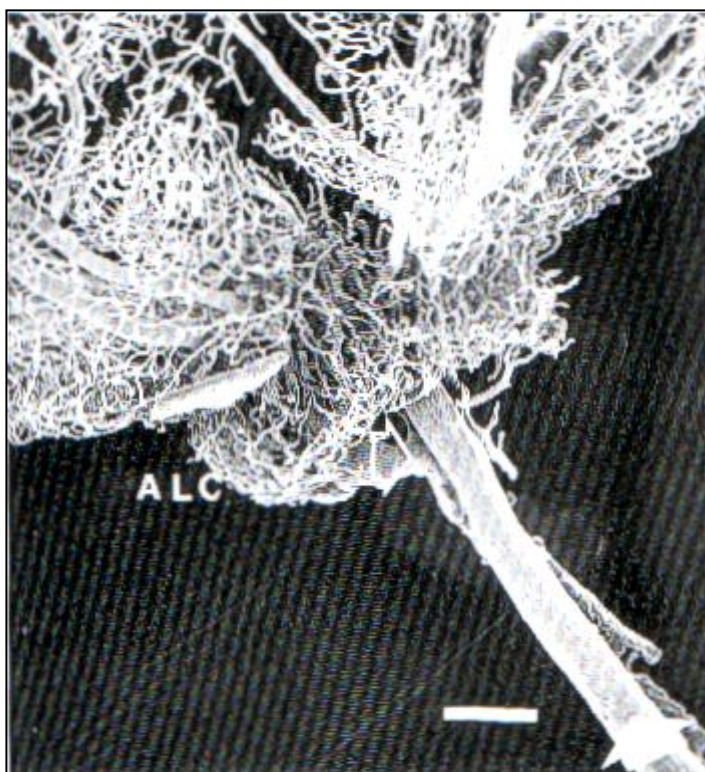


Figura 4 Circolazione degli strati prelaminare e laminare della testa del nervo ottico (microscopia elettronica, riprodotta per gentile concessione del professor E. Carella).

FISIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA: circolazione della testa del nervo ottico

A livello della TNO si incontrano due sistemi vascolari, retinico e ciliare. Il contributo del circolo retinico è tuttavia minimo, essendo la vascolarizzazione distrettuale assicurata essenzialmente dal circolo ciliare.

Tra i due circoli esistono differenze fisiologiche fondamentali. Il circolo retinico è caratterizzato da un basso flusso ematico e da un'alta estrazione di ossigeno, mentre quello ciliare ha proprietà opposte. I vasi retinici hanno una valida attività di autoregolazione, sono cioè in grado di mantenere costante, entro certi limiti, il flusso sanguigno al variare delle pressioni ematica ed intraoculare e delle concentrazioni locali di ossigeno e di anidride carbonica, che provocano rispettivamente vasocostrizione e vasodilatazione, agendo direttamente sulle cellule muscolari delle pareti vasali. Anche la PIO agisce sullo stato di costrizione e dilatazione dei vasi retinici. Il contributo dei rami dell'ACR è tuttavia limitato agli strati superficiale e retrolaminare della TNO, mentre lo strato fondamentale per l'irrorazione di questa struttura è il laminare, servito esclusivamente da rami delle ACPB, facenti parte del circolo ciliare ⁹³.

Il circolo ciliare è dotato di una scarsa capacità autoregolatoria. La sua regolazione avviene ad opera del sistema nervoso autonomo simpatico, che ha attività essenzialmente vasocostrittrice. I vasi ciliari rispondono meno dei retinici alle concentrazioni locali di ossigeno e di anidride carbonica, mentre il loro stato funzionale è determinato da agenti circolanti vasoattivi, quali l'acetilcolina, le catecolamine, le endoteline, ed il nitrossido. Queste sostanze non hanno effetti significativi sul circolo retinico in quanto non passano la barriera emato-retinica. A livello della lamina cribrosa, invece, non è presente una vera e propria barriera. La testa del nervo ottico è l'unica parte del sistema nervoso centrale priva di barriera emato-cerebrale ⁷⁵. Esiste anche una diffusione di sostanze dalla coroide circostante al disco ottico. La circolazione distrettuale è dunque particolarmente sensibile a molecole circolanti vasoattive, quali le endoteline (ETs), tra le quali la più importante è l'endotelina-1 (ET-1), e l'ossido nitrico, o nitrossido (NO).

Il NO è un importante regolatore del flusso ematico coroideale basale. Esso ha un'azione vasodilatatoria in condizioni basali ¹⁹⁶. La sintesi di NO aumenta in condizioni di ipossia, per esempio in presenza di una riduzione della pressione di perfusione oculare, per mantenere un'adeguata perfusione della TNO ¹²⁴. Possono tuttavia essere presenti alterazioni del metabolismo del NO di derivazione endoteliale che impediscono l'incremento della sintesi del NO o comunque ne riducono la funzionalità, facendo prevalere l'azione vasocostrittrice dell'altra fondamentale molecola vasoattiva di origine endoteliale, l'ET-1, che normalmente è in equilibrio dinamico con il

NO. Se ciò avviene, l'apporto ematico alla TNO viene ad essere ridotto e si crea una situazione di ischemia tissutale che, nel caso del glaucoma, contribuisce allo sviluppo ed alla progressione dei danni alle cellule ganglionari retiniche ed ai loro assoni, le fibre del nervo ottico, tramite l'innescò di una cascata biochimica che porta all'apoptosi delle CGR ed all'attivazione delle cellule gliali ^{75, 89, 92, 137}.

Il flusso ematico coroideale, e quindi della testa del nervo ottico, essendo scarsamente autoregolato, è fortemente dipendente dalla pressione di perfusione oculare. Quest'ultima è un parametro che riflette l'influenza simultanea della pressione arteriosa sistemica sistolica e diastolica (PAS e PAD) e della pressione intraoculare sulla perfusione della TNO. Si distinguono una pressione di perfusione oculare media (PPOm), una sistolica (PPOs), ed una diastolica (PPOd), che vengono rispettivamente calcolate con le seguenti formule: $PPOm = \frac{2}{3} (\frac{2}{3} PAD + \frac{1}{3} PAS) - PIO$, $PPOs = PAS - PIO$, $PPOd = PAD - PIO$.

A livello retinico l'apporto ematico rimane costante entro un ampio *range* di pressioni di perfusione, grazie ad un'efficace autoregolazione. La coroide, e quindi la TNO, risponde a variazioni di pressione di perfusione mediante un meccanismo regolatorio di tipo metabolico. Esso comporta una vasodilatazione distrettuale indotta dall'equilibrio tra ossido nitrico ed endoteline ⁵⁹. In presenza di uno sbilanciamento tra queste due sostanze, quindi, la TNO non è in grado di adattarsi alle modificazioni dei parametri circolatori sistemici e della pressione intraoculare ⁸⁵. L'ipertono oculare e l'ipotensione sistemica possono determinare una riduzione della pressione di perfusione oculare che in definitiva conduce ad una condizione di ischemia della TNO, noto fattore di rischio per l'insorgenza e la progressione dell'otticopatìa glaucomatosa ^{23, 182, 186, 287}.

L'ischemia può essere cronicamente presente, oppure essere intermittente. Ampie variazioni della pressioni arteriosa ed intraoculare, che si riflettono in altrettanto ampie variazioni delle pressioni di perfusione oculari, possono pertanto determinare una transitoria ipoperfusione della TNO che viene seguita da una riperfusione distrettuale. Si viene così a favorire il cosiddetto "danno da ischemia-riperfusione", fenomeno evidente anche nell'*ictus cerebri* ²³⁸. La pericolosità di tale fenomeno risiede nella formazione di radicali liberi dell'ossigeno, sostanze altamente neurotossiche che nel caso del glaucoma sono in grado di influire pesantemente sul determinismo e la progressione dell'otticopatìa ^{177, 230, 238, 302, 321}.

Le alterazioni endoteliali causa di uno squilibrio tra NO e ET-1 determinano una condizione di disregolazione vascolare, ossia di vasospasmo, che influisce negativamente sul mantenimento di un'adeguata perfusione della TNO anche attraverso il suddetto "danno da ischemia-riperfusione" ^{76, 77}. Il NO di derivazione endoteliale, oltre alla sua azione vasodilatatoria, ha proprietà neuroprotettive legate alla sua attività di *scavenger* dei radicali liberi ²⁸⁸. Una sua riduzione, o

comunque una sua ridotta funzionalità, favorisce quindi lo sviluppo dell'otticopatìa glaucomatosa. Appare quindi chiaro che il ruolo multifaccettato dell'ossido nitrico nell'omeostasi di vari processi fisiopatologici oculari riveste un'importanza notevole nella malattia glaucomatosa, in particolare nella forma a tensione normale.

In definitiva, la fisiopatologia della circolazione della testa del nervo ottico è estremamente complessa. L'emodinamica oculare, segnatamente quella della TNO, è sensibile a diverse condizioni sistemiche e distrettuali in grado di influire negativamente su di essa. Tutte queste condizioni, in virtù dell'eziopatogenesi multifattoriale dell'otticopatìa glaucomatosa, che riunisce fattori di rischio meccanici (ipertensione oculare) e vascolari (ischemia della testa nervo ottico) devono pertanto essere attentamente valutate nei soggetti affetti da tale patologia.

GLAUCOMA A TENSIONE NORMALE

CENNI STORICI

La prima definizione del glaucoma a tensione normale si deve a Albrecht von Graefe che, nel 1857, descrisse una forma di glaucoma che conduceva ad un danno anatomico e funzionale progressivo senza che fossero evidenti altre patologie oculari ed un aumento della PIO alla palpazione. Dopo l'introduzione dei tonometri nella pratica clinica il limite superiore di normalità della PIO è stato fissato a 21 mmHg. Un glaucoma primario ad angolo aperto che insorga in presenza di valori di pressione inferiori a tale soglia è stato quindi denominato "a pressione normale". Le recenti acquisizioni sull'influenza di fattori addizionali alla PIO sull'insorgenza dell'otticopatia glaucomatosa hanno portato alla moderna definizione di glaucoma a tensione normale, che è tutt'ora in uso.

DEFINIZIONI E CRITERI DIAGNOSTICI

Il glaucoma a tensione normale è una forma di glaucoma primario ad angolo aperto caratterizzata da alterazioni glaucomatose del disco ottico e dello strato delle fibre nervose e da possibili deficit perimetrici corrispondenti alle lesioni papillari, in presenza di un angolo irido-corneale aperto e di una pressione intraoculare nei limiti statistici della norma (entro due deviazioni standard dalla media della popolazione generale non affetta) valutata con una curva tonometrica. Dai risultati di importanti studi epidemiologici è stato stabilito che il valore normale della PIO è pari a 15.5 ± 2.6 mmHg e che il limite superiore di normalità della PIO (96% dei soggetti sani) è 21 mmHg ^{6, 154}. Il valore normale della PIO rimane tuttavia un dato discusso, al punto che sarebbe probabilmente più opportuno definire patologico qualsiasi valore di PIO che comporti l'insorgenza di un danno anatomico e funzionale di tipo glaucomatoso, indipendentemente dal suo valore assoluto.

Secondo le linee guida dell'European Glaucoma Society (EGS), il GTN è una variante del GPAA caratterizzata dalla presenza di un livello massimo di PIO <22 mmHg nella curva tonometrica diurna, di alterazioni glaucomatose della papilla ottica, da difetti perimetrici compatibili con i danni papillari, con maggiore frequenza di difetti paracentrali ⁶⁶.

Una classificazione del GTN in sottogruppi fondata su criteri clinico-eziologici è stata proposta alcuni anni fa ²⁶. La distinzione tra GTN miopico, ischemico, e senile-sclerotico ha una fondata base eziopatogenetica, tuttavia non esistono evidenze scientifiche di un risvolto clinico e quindi di una reale utilità pratica di questa classificazione.

EPIDEMIOLOGIA

La prevalenza del GTN varia, in relazione alle popolazioni considerate, dal 6 al 65%, con un picco del 65% nei Giapponesi ^{51, 178, 273}. La malattia è relativamente rara negli Afro-americani ²⁷¹. La frequenza del GTN sul totale dei glaucomi è valutata intorno al 30-40% ¹³⁶.

Il GTN appare più frequente nelle donne, con un rapporto stimato maschi:femmine di 2:1 ¹⁵⁹. Il genere femminile è un fattore di rischio per il GTN, secondo i risultati del Collaborative Normal-Tension Glaucoma Study, determinando un aumento del rischio di incidenza della malattia pari 1.85 volte ⁵⁸. È una patologia che colpisce soprattutto gli anziani; infatti, la prevalenza passa da 0.2% nella fascia d'età dai 43 ai 54 anni a 1.6% nei soggetti di età superiore a 75 anni ¹⁶⁷.

FATTORI PATOGENETICI

Pressione intraoculare: il GTN è altrimenti denominato glaucoma a bassa tensione. Nondimeno, è stato ampiamente dimostrato che la PIO è un fattore di rischio importante per l'insorgenza e la progressione della malattia. Invero, la PIO, pur restando nei limiti statistici della norma, tende verso i limiti superiori della norma, ed è negli occhi con PIO più elevata che si manifestano più precocemente e sono più gravi i danni papillari e perimetrici ^{4, 43}. Un'ulteriore dimostrazione dell'importanza patogenetica della PIO nel GTN è fornita dai risultati del Collaborative Normal Tension Glaucoma Study (CNTGS): un abbassamento della PIO di almeno il 30% rispetto ai valori basali riduce il tasso di progressione dell'otticopatia dal 35% al 12%. D'altro canto, lo stesso studio afferma che circa il 50% dei pazienti rimane stabile dal punto di vista funzionale anche se non viene trattato, mentre non tutti i casi in cui la PIO viene efficacemente ridotta ed è ben controllata nel tempo con la terapia ipotonizzante mostrano una stabilità dei danni anatomici e funzionali ²²⁷.

Da ciò deriva che altri fattori di rischio giocano un ruolo importante nella patogenesi del GTN e possono influenzarne la storia clinica. Il peso effettivo di ognuno di questi fattori deve essere valutato nel singolo paziente, al fine di ottimizzare la gestione terapeutica. I fattori implicati sono di natura genetica e soprattutto vascolare.

Genetica: le ricerche in ambito genetico non hanno ad oggi fornito dati conclusivi, ma sono state descritte mutazioni del gene OPA1 ^{8, 245}. Le mutazioni del gene OPA1 sul cromosoma 3 sono la causa dell'atrofia ottica dominante, nella quale le modificazioni papillari sono fenotipicamente simili al GTN. Tuttavia, un recente studio non ha evidenziato diversità significative in termini di danno papillare e perimetrico tra i pazienti con polimorfismi del gene OPA1 e quelli nei quali le mutazioni erano assenti ⁹. La questione se le mutazioni del gene OPA1 possano avere un ruolo

patogenetico nel GTN o se si tratti di una semplice associazione rimane pertanto da chiarire. Sono state altresì riportate mutazioni del gene OPTN (optineurina) in alcuni casi di GTN sporadico o familiare^{10, 257}. L'optineurina, prodotto del gene OPTN coinvolto nei meccanismi di apoptosi delle cellule ganglionari retiniche, sembra aumentare la suscettibilità verso l'insorgenza di GTN, tuttavia il suo ruolo patogenetico non è attualmente definito⁸⁴.

Fattori vascolari: i fattori vascolari sono un rischio accertato per lo sviluppo e la progressione di molte forme di glaucoma. La variante a tensione normale sembra quella in cui questi fattori rivestono la maggiore importanza. Tra di essi, le alterazioni della pressione arteriosa sistemica e del flusso ematico oculare sembrano cruciali in riferimento allo sviluppo dell'otticopatía glaucomatosa. I fattori vascolari sistemici e locali sono verosimilmente correlati tra loro e riconoscono un meccanismo patogenetico comune, il vasospasmo, ovvero una disregolazione vascolare causata da uno squilibrio tra agenti vasoattivi di origine endoteliale. Uno studio importante quale il Collaborative Normal-Tension Glaucoma Study ha stabilito che l'emicrania e le emorragie del disco ottico, segni rispettivamente di vasospasmo e di un deficit di perfusione della TNO, sono associati ad un aumento del rischio di sviluppare l'otticopatía pari a 2.58 volte per l'emicrania ed a 2.72 volte per le emorragie⁵⁸.

FATTORI VASCOLARI

Ossido nitrico

L'ossido nitrico, o nitrossido (NO), è un'importante molecola che agisce come messaggero intercellulare nell'apparato cardiovascolare, nel sistema nervoso centrale, e nel sistema immunitario. Fisiologicamente, il NO è un potente vasodilatatore, regola varie attività neuronali e reazioni immunitarie.

Le alterazioni del bilancio del NO sono implicate nella patogenesi dell'otticopatía glaucomatosa, in quanto possono influire sulla regolazione della pressione intraoculare, della perfusione oculare, e dell'apoptosi delle cellule ganglionari retiniche^{172, 230, 265, 288}.

Il NO è una molecola gassosa, con una breve emivita (2-30 secondi); per le sue piccole dimensioni, diffonde molto facilmente attraverso le membrane cellulari.

La sua sintesi nell'uomo, analogamente alle altre specie animali, avviene ad opera delle nitrossido-sintetasi (NOS), in presenza di ossigeno e cofattori¹²⁵. Sono state finora caratterizzate tre isoforme di NOS, la forma neuronale (n-NOS o NOS I), la forma immunologica o inducibile (i-NOS o NOS II), e quella endoteliale (e-NOS o NOS III). Le NOS I e III sono costitutivamente espresse su

cellule neuronali encefaliche e dei nervi periferici e sulle cellule endoteliali, rispettivamente. La NOS II, invece, viene espressa sui macrofagi solo previa induzione con lipopolisaccaride batterico e citochine^{25, 83, 279}.

La sintesi neuronale è fisiologicamente mantenuta entro limiti di norma che consentono l'ottimale regolazione di svariate attività di neuromodulazione e neurotrasmissione³⁰⁷. Un'eccessiva produzione di NO può essere stimolata da un aumento delle concentrazioni locali di glutammato, come avviene in alcune malattie neurodegenerative ed in condizioni di ischemia tissutale, ad esempio nell'*ictus cerebri*²³⁸. La sintesi endoteliale è anch'essa regolata in maniera tale da mantenere un costante stato di vasodilatazione. In caso di aumento della tensione sulle pareti vasali (*sheer stress*) la produzione di NO viene incrementata; ulteriori stimoli per l'aumento della sintesi di NO sono la bradichinina, l'istamina, l'acetilcolina, e la serotonina^{107, 207}. La i-NOS viene indotta da stati flogistici ed ischemici mediante la liberazione di citochine; la sua iperstimolazione, alterandone l'azione di modulazione della flogosi, causa danni tissutali mediante fenomeni sia di necrosi che di apoptosi²¹⁶.

Il NO va ad agire sulle cellule muscolari lisce della parete vasale attraverso il secondo messaggero GMP ciclico (cGMP), il cui aumento causa una riduzione delle concentrazioni intracellulari di Ca^{2+} ed una conseguente defosforilazione delle catene leggere della miosina che conduce al rilascio delle cellule muscolari lisce e quindi alla vasodilatazione¹⁹⁶. La degradazione del NO avviene tramite rapidi processi ossidativi che conducono alla produzione di nitrati (NO_2), inattivi². I nitrati sono importanti *markers* dei livelli del NO nei tessuti e nei fluidi biologici, grazie alla loro lunga emivita, che ne consente il dosaggio con metodiche immunoistochimiche. Anche il cGMP è considerato un indicatore dei livelli di NO, seppur meno specifico dei nitrati.

La biosintesi di NO da parte di tutte le tre isoforme viene inibita da analoghi della L-arginina, tra i quali il più frequentemente utilizzato è il N^G -nitro-L-arginina metilestere (L-NAME). Esistono tuttavia anche inibitori selettivi della n-NOS e della i-NOS^{211, 212, 240, 256}.

Nell'occhio sono state individuate tutte le isoforme della NOS. La n-NOS è presente nella retina ed a livello del nervo ottico, la e-NOS nei vasi del segmento anteriore e posteriore, in particolare nelle strutture deputate al metabolismo dell'umor acqueo ed alla perfusione della testa del nervo ottico, la i-NOS nelle cellule gliali connesse con le fibre del nervo ottico^{80, 208, 220, 221}.

- EFFETTI SULLA PRESSIONE INTRAOCULARE: il NO prodotto a livello delle strutture oculari deputate al deflusso dell'umor acqueo incide sulla regolazione della pressione intraoculare. E' stato infatti dimostrato che il NO svolge un'azione facilitante il deflusso trabecolare in modelli animali e nell'uomo^{35, 217, 218}. Gli effetti ipotonzizzanti del NO sembrano secondari alla produzione di ET-1 indotta da aumenti della PIO²⁸⁰. A conferma dell'azione ipotensiva del NO, la

somministrazione per via sistemica o locale di molecole donatrici di NO incrementa il deflusso dell'umor acqueo ^{267, 298}. Al riguardo, il nostro gruppo ha recentemente dimostrato che la somministrazione per via topica in conigli albini di una molecola ottenuta dall'associazione di un donatore di NO con il desametasone previene l'ipertono provocato dall'instillazione del solo desametasone ⁹⁴.

- EFFETTI SUL FLUSSO EMATICO OCULARE: studi condotti in animali e nell'uomo hanno mostrato che il NO prodotto dalla e-NOS agisce come potente vasodilatatore a livello della microcircolazione retinica e coroideale e dei vasi retrobulbari ^{173, 195, 264, 282, 288}.

Un'importante funzione fisiologica del NO è quella di stimolare il rilassamento delle cellule muscolari lisce vasali, nell'occhio come in altri organi e tessuti, al fine di avere una condizione di normale vasodilatazione che assicuri un'adeguata perfusione distrettuale ¹²⁴. Ricerche condotte su animali e sull'uomo hanno dimostrato che il NO agisce prevalentemente sul circolo coroideale e della testa del nervo ottico, meno sull'emodinamica retinica, che è dotata di autoregolazione ^{121, 265}. L'effetto additivo dell'innervazione nitrergica sulla vasodilatazione retinica e coroideale è stato messo in evidenza da esperimenti e studi istologici effettuati su varie specie animali, mentre mancano dati al riguardo nell'uomo ^{11, 226, 288}.

La produzione del NO può essere modulata in risposta a stimoli vasocostrittori, per consentire il mantenimento dell'omeostasi del tono vascolare. Infatti, la regolazione del flusso ematico coroideale e quindi della testa del nervo ottico, di pertinenza delle arterie ciliari posteriori brevi, è operata dall'azione combinata di mediatori circolanti tra i quali l'angiotensina II, la bradichinina, le endoteline, ed il NO ¹²⁴. L'aumentata espressione di e-NOS sugli endoteli vascolari può avere un ruolo neuroprotettivo, andando a contrastare gli effetti neurotossici legati all'iperattivazione di n-NOS e i-NOS ²²⁰.

In molti soggetti con glaucoma, soprattutto normotensivo, è stata trovata una disregolazione endoteliale che può alterare la sintesi di NO da parte di e-NOS e quindi far prevalere gli effetti dannosi del NO su quelli benefici ^{75, 89, 92, 137}.

- EFFETTI SULL'APOPTOSI DELLE CELLULE GANGLIONARI RETINICHE: il NO è uno dei più importanti neurotrasmettitori presenti nell'uomo ed in moltissime specie animali. Fisiologicamente il NO sintetizzato dalla n-NOS media la plasticità sinaptica ed ha proprietà antiossidanti e neuroprotettive, fungendo da *scavenger* dei radicali liberi quali l'anione superossido ed altre specie reattive derivanti dall'ossigeno (ROS) ²⁸⁸. Tuttavia, in condizioni di ischemia-riperfusion e di accumulo di glutammato, come in caso di ischemia cerebrale e di alcune malattie neurodegenerative, il NO diventa nocivo, causando tossicità tissutale mediante l'induzione dell'apoptosi cellulare. Nelle suddette condizioni, infatti, il NO viene iperprodotto soprattutto dalla

i-NOS, ma anche dalla n-NOS, e provoca, interagendo con l'ossigeno, la formazione di ROS quali i perossinitriti, potenti radicali liberi che danneggiano il DNA e le proteine delle RGC, che vanno infine in apoptosi. A livello della testa del nervo ottico la n-NOS viene iperespressa nelle cellule astrocitarie e la i-NOS viene indotta da stati di ridotta perfusione locale, in particolare da alterazioni della regolazione del flusso ematico che comportino variazioni della perfusione stessa, riproducendo una condizione di ischemia-riperfusion. Questa condizione, che si verifica in presenza di una temporanea riduzione della perfusione ematica tissutale seguita da una ripresa del flusso sanguigno, provoca un'iperproduzione di aminoacidi eccitatori come il glutammato, che attivano la n-NOS e la i-NOS, innescando una cascata di reazioni biochimiche che in ultima analisi conduce all'apoptosi^{189, 220, 261, 294, 313}. Il NO prodotto dalla e-NOS svolge fisiologicamente un'azione neuroprotettiva che controbilancia quella dannosa del NO sintetizzato dalla n-NOS e dalla i-NOS nelle suddette circostanze^{16, 305}.

La sintesi endoteliale di NO viene stimolata da condizioni di transitoria ischemia tissutale in tutti i tessuti, compresi quelli nervosi. L'incremento del NO determina un aumento del flusso ematico locale e quindi una maggiore cessione di ossigeno ai tessuti ischemici che, entro certi limiti, protegge le cellule nervose e le risparmia dalla morte. La riperfusion può tuttavia innescare essa stessa una cascata biochimica che, attraverso la produzione di radicali liberi e specie reattive dell'ossigeno, conduce le cellule nervose all'apoptosi (danno da ischemia-riperfusion)^{177, 230, 238, 302, 321}. Elevate concentrazioni di NO di origine endoteliale sono protettive, per l'azione antagonista che la molecola svolge nei confronti dei suddetti radicali liberi.

Esistono situazioni nelle quali la risposta endoteliale non avviene o è insufficiente. Nel glaucoma alterazioni dell'emodinamica retrobulbare sono spesso conseguenti ad una disregolazione vascolare causata almeno in parte da disfunzioni endoteliali che coinvolgono mediatori quali le endoteline ed il nitrossido. La e-NOS può essere quindi malfunzionante e per questo incapace di opporsi all'azione proapoptotica delle n-NOS e i-NOS iperattivate. La ridotta funzionalità della e-NOS, e quindi la diminuzione dei livelli di NO di derivazione endoteliale, benefico ai fini di un'adeguata perfusione della testa del nervo ottico e della neutralizzazione dei radicali liberi, può essere uno dei fattori patogenetici implicati nella genesi e nella progressione dell'otticopatìa glaucomatosa²⁸⁸. Lo squilibrio tra NO ed ET-1, che si palesa nel vasospasmo, è significativamente associato al glaucoma, in particolare al GTN, nel quale svolge un ruolo patogenetico ad oggi non completamente chiarito. E' ipotizzabile che una disfunzione endoteliale generalizzata comporti anche l'esistenza di un vasospasmo oculare, tuttavia difficile da dimostrare^{69, 119, 137}.

Alcuni lavori supportano la veridicità di tale ipotesi, rivelando la presenza di elevati livelli di ET-1 nei pazienti affetti da glaucoma^{156, 281}. Le alterazioni del flusso ematico oculare sembrano almeno

in parte correlate ad una condizione di disregolazione vascolare sistemica, ovvero pazienti affetti da GPAA con vasospasmo acrale mostrano un basso flusso ematico a livello della TNO⁶³. Un ulteriore segno di disregolazione vascolare è la maggiore sensibilità periferica alla vasocostrizione indotta dall'ET-1 presente in pazienti glaucomatosi con ipotensione arteriosa dimostrata da Gass et al. Gli autori ipotizzano che una risposta vascolare simile possa verificarsi anche a livello oculare⁹⁸. Fino ad oggi la letteratura scientifica non ha fornito delucidazioni al riguardo.

Per quanto riguarda il NO, sono stati condotti alcuni studi genetici che non hanno finora identificato mutazioni nel gene e-NOS che possano avere un sicuro ruolo patogenetico nel glaucoma^{114, 194, 291}.

Lo studio delle complesse interazioni biochimiche tra l'ipertono, l'ischemia della TNO, ed il NO nell'uomo è molto difficoltoso, perché dovrebbe essere effettuato direttamente a livello della testa del nervo ottico, cosa impossibile *in vivo*. I dati in proposito, derivati da esperimenti su modelli animali e su pezzi biotici, hanno fornito informazioni importanti che possono essere almeno in parte estrapolate per la specie umana, date le similitudini anatomiche e biologiche esistenti tra le specie animali usate in tali studi e la specie umana. Si ricorda in particolare che le endoteline ed il nitrossido sono molecole altamente conservate, che non mostrano variazioni di rilievo tra le diverse specie.

In letteratura esistono molti studi clinici condotti nell'uomo che hanno indagato il ruolo del NO nella fisiopatologia del glaucoma, con particolare attenzione per gli effetti vascolari del NO nel glaucoma a tensione normale. Nella maggior parte degli studi sono stati considerati i livelli di NO, più precisamente dei suoi *markers* (GMP ciclico, nitrati) nel plasma e/o nell'umor acqueo, quindi non è stata operata una distinzione tra la produzione della molecola da parte delle diverse isoforme. Alcuni lavori, invece, sono stati condotti per determinare il ruolo di specifiche alterazioni di natura genetica della e-NOS potenzialmente rilevanti sotto il profilo patogenetico.

E' stato dimostrato che il metabolismo del NO differisce tra soggetti glaucomatosi e controlli sani. Alcuni autori hanno evidenziato livelli di NO più elevati della norma nell'umor acqueo di occhi affetti da glaucoma, con variazioni notevoli tra le diverse forme di patologia, altri hanno dimostrato una ridotta produzione di NO nei soggetti glaucomatosi^{33, 54}.

La presenza di valori significativamente minori di un metabolita del NO, il cGMP, nell'umor acqueo e nel plasma è stata riscontrata in un gruppo di pazienti con glaucoma a tensione normale rispetto ad uno di controlli sani; gli stessi pazienti mostravano anche una significativa riduzione delle velocità sistolica e diastolica nell'arteria oftalmica⁸⁹. Lo stesso gruppo di lavoro ha confermato, in un campione di glaucomi iperbarici, la presenza di valori significativamente ridotti dei *markers* del NO (cGMP e NO₂) nel plasma e nell'acqueo in uno studio nel quale è stata anche indagata la possibile correlazione dei livelli di NO con la pressione di perfusione oculare; gli autori

hanno evidenziato una relazione diretta, seppur statisticamente non significativa, tra le due variabili sia nei glaucomi che nei controlli ⁹².

Anche altri autori hanno riscontrato valori inferiori, anche se in maniera non statisticamente significativa, dei metaboliti del NO (cGMP e NO₂) nell'acqueo e nel plasma dei pazienti affetti da glaucoma rispetto ai controlli. I livelli dei metaboliti nell'acqueo risultavano più elevati nei pazienti in terapia con nitroderivati per via orale. Questo dato, apparentemente ovvio, indica che le concentrazioni oculari di NO non dipendono solo da una produzione locale, ma anche da una diffusione dal torrente ematico, supportando la veridicità degli studi clinici nei quali vengono dosati i *markers* del NO solo nel plasma e non anche nell'acqueo. Lo stesso dato ha inoltre implicazioni terapeutiche importanti, fornendo il presupposto per l'utilizzo di molecole che incrementino i livelli di NO nei soggetti con glaucoma ¹⁷⁴.

E' stato dimostrato che il trattamento sistemico cronico con nitrati può ridurre la PIO nei soggetti affetti da GPAA ³⁰⁶. Le terapie con nitroderivati per via orale possono inoltre migliorare la perfusione della retina, della coroide, e della testa del nervo ottico ^{115, 116}. Al contrario, la somministrazione endovenosa di inibitori della NOS provoca una diminuzione del flusso ematico della testa del nervo ottico ¹⁹⁵.

In uno studio volto ad investigare la vasodilatazione periferica mediante infusione venosa nell'avambraccio di nitroprussiato ed acetilcolina la risposta all'acetilcolina è risultata significativamente inferiore in soggetti con glaucoma normotensivo, segno di una disfunzione endoteliale generalizzata ¹³⁷.

La fisiologica azione protettiva della e-NOS in contrasto con gli effetti neurotossici delle n-NOS e i-NOS può essere impedita dalla presenza di alterazioni strutturali e funzionali dell'enzima. Tunny et al hanno dimostrato in una percentuale significativa di glaucomi familiari l'esistenza di una mutazione genetica della e-NOS ²⁹¹. Sono stati identificati alcuni polimorfismi della e-NOS che tuttavia non sono risultati prevalenti nei soggetti glaucomatosi rispetto ai controlli ¹⁸⁷. Una particolare mutazione, la T786C, è stata associata ad un'aumentata incidenza di spasmo coronarico ²¹⁵.

L'ipotesi che questa mutazione, causa di una ridotta sintesi di NO a livello endoteliale, sia più frequente della norma in soggetti glaucomatosi e che quindi possa giocare un ruolo nella patogenesi della malattia, è stata testata in una popolazione di pazienti con glaucoma iperbarico e normotensivo. Lo studio ha evidenziato un'associazione significativa tra la mutazione e la presenza di glaucoma solo nei soggetti con emicrania, condizione vasospastica potenzialmente predisponente al glaucoma ^{58, 194}.

Il metabolismo del NO è legato a quello delle endoteline. Infatti l'ET-1, quando è presente a concentrazioni basse quali quelle fisiologiche, stimola il rilascio di NO attraverso i recettori endoteliali ET_B. Livelli patologicamente elevati di ET-1 stimolano invece un'eccessiva vasocostrizione, che è la base biochimica delle sindromi vasospastiche.

Oltre alle ETs ed al NO, esistono fattori endoteliali meno studiati, che potrebbero avere una parte di rilievo nella fisiopatologia del glaucoma. L'alterazione cronica degli endoteli può causare un incremento della produzione del fattore di crescita vascolare endoteliale (vascular endothelial growth factor, VEGF) e del fattore di von Willebrand (vWf). Lip et al hanno segnalato un significativo aumento del VEGF e del vWf in un gruppo di glaucomi sia iperbarici che normotensivi; questo dato preliminare merita approfondimenti che potrebbero aprire la strada a strategie terapeutiche mirate ¹⁸⁸.

Endoteline

Le endoteline sono considerate tra le più potenti sostanze vasocostrittrici attualmente conosciute. Sono presenti in tutti gli organi e tessuti della maggior parte delle specie animali, in particolare in tutti i vertebrati, dove giocano un ruolo cruciale nell'omeostasi vascolare. La struttura chimica delle endoteline è altamente conservata tra le varie specie animali, a prova dell'importante ruolo rivestito da tali sostanze nella fisiologia e la fisiopatologia di tali specie ²⁴⁸.

Le endoteline costituiscono una classe di neuropeptidi che comprende principalmente tre isoforme di endoteline, ET-1, ET-2, e ET-3, con caratteristiche simili ed alcune peculiarità; l'isoforma finora meglio caratterizzata, ed apparentemente quella biologicamente più rilevante, è la ET-1.

Queste sostanze sono prodotte dalle cellule endoteliali vascolari ed agiscono sulle cellule bersaglio tramite l'interazione con recettori specifici.

La seguente trattazione fa riferimento alla ET-1, tuttavia gli aspetti biochimici concernenti le altre due isoforme sono analoghi.

La secrezione dell'ET-1 è sia basale che regolata, ossia indotta da *triggers* quali l'ipossia, la trombina, l'angiotensina II, ed alcune citochine (*transforming growth factor*- β [TGF- β], interleuchina-1 [IL-1], tumor necrosis factor- α [TNF α], interferone- γ [IFN- γ]), ed inibita da sostanze come l'*atrial natriuretic peptide* e l'eparina ^{42, 169, 231}.

L'ET-1 secreta va ad agire su due tipi di recettori: ET_A e ET_B ²⁶². Dall'interazione con il recettore ET_A, posto sulle cellule muscolari lisce, parte una cascata di reazioni biochimiche che conduce alla contrazione di tali cellule e pertanto alla vasocostrizione ¹⁹⁸. Mediante il recettore ET_B, sito sulle cellule endoteliali, l'ET-1 stimola la produzione di ossido nitrico (NO), inducendo quindi una

vasodilatazione per la successiva azione del NO sulle cellule muscolari lisce delle pareti vascolari³¹⁰. La stimolazione del recettore ET_B avviene in presenza di basse concentrazioni di ET-1, quella del recettore ET_A richiede livelli più elevati del peptide²⁴¹.

Nell'occhio sono rappresentate la ET-1 e, in misura minore, la ET-3^{130, 246}. Esse si trovano a livello del corpo ciliare, dell'iride, della cornea, della retina, e della testa del nervo ottico. La sintesi è prevalentemente locale¹⁹⁷. I livelli plasmatici delle ETs sono indicativi degli effetti di tali sostanze a livello intraoculare in quanto proporzionali alla produzione delle ETs nei vasi oculari, in particolare retrobulbari³¹¹. A livello della TNO non si ritrova una vera e propria barriera emato-tissutale; si può pertanto assumere che le concentrazioni plasmatiche riflettano, almeno entro certi limiti, quelle presenti a livello della TNO.

Le endoteline agiscono, oltre che sui vasi, su molte strutture del segmento anteriore e posteriore, principalmente la cornea, il muscolo ciliare, il trabecolato, le cellule retiniche e gliali^{65, 179, 180, 283, 284, 300, 312, 320}.

Elevate concentrazioni di ET-1, in risposta ad ipertono oculare, possono ridurre la produzione di umor acqueo. Quest'azione ipotensivante appare mediata almeno in parte dal NO prodotto in seguito alla stimolazione dei recettori ET_B dei processi ciliari²⁸⁰.

E' stato dimostrato che le cellule dell'epitelio pigmentato retinico possono sintetizzare ET-1, probabilmente in risposta ad aumenti della PIO. L'ET-1 ivi prodotta può agire sulle adiacenti cellule ganglionari e gliali, inducendo apoptosi delle cellule ganglionari tramite la mediazione del NO prodotto dalla NOS-2 ed astrogliosi, in virtù della propria azione mitogena^{158, 247, 277}.

A livello dei vasi sanguigni l'ET-1 provoca, mediante la stimolazione dei recettori ET_A, una vasocostrizione che in condizioni normali è bilanciata dalla vasodilatazione basale dovuta al NO^{162, 207}. L'ET-1 alle normali, basse, concentrazioni agisce sui recettori ET_B, stimolando la produzione di NO, il responsabile appunto del tono basale di vasodilatazione in cui si trovano i vasi oculari¹⁴¹. A concentrazioni superiori alla norma, oppure in presenza di una riduzione dei livelli di NO, l'ET-1 provoca una marcata costrizione vascolare, agendo sui recettori ET_A.

L'azione vasocostrittrice viene esercitata sui vasi retinici e coroideali; particolare importanza riveste, per quanto riguarda la patologia glaucomatosa, l'azione sulle arterie ciliari posteriori brevi, i vasi maggiormente implicati nell'irrorazione della testa del nervo ottico¹⁶¹. La potenza vasoattiva dell'ET-1 è inversamente proporzionale al diametro dei vasi. La vasocostrizione indotta dall'ET-1, infatti, è massima a livello della microcircolazione, perciò strutture quali la cute e la testa del nervo ottico sono molto sensibili a questa sostanza^{121, 124}.

Da quanto finora esposto risulta dunque che l'ET-1, oltre ad avere effetti molto importanti sul flusso ematico oculare, è implicata nella regolazione della pressione intraoculare e nell'attivazione delle cellule gliali.

- **REGOLAZIONE DELLA PRESSIONE INTRAOCULARE:** studi su animali hanno dimostrato un'azione ipotensivante dell'ET-1 in risposta ad aumenti della PIO. Quest'azione, mediata dai recettori ET_A ed ET_B, è dovuta all'incremento del deflusso dell'umor acqueo^{65, 180, 280, 284}. L'ET-1 agisce sulle strutture responsabili dell'omeostasi dei fluidi nelle camere anteriore e posteriore con meccanismo paracrino, pertanto gli effetti sulla PIO sono riconducibili ad un aumento della produzione intraoculare di ET-1. Solo i livelli nell'umor acqueo e nel vitreo, non quelli plasmatici, di ET-1 possono quindi essere messi in relazione con gli effetti della molecola sulla PIO.

- **EFFETTI SUL FLUSSO EMATICO OCULARE:** studi clinici condotti su animali e sull'uomo hanno evidenziato che l'ET-1 induce una riduzione del flusso ematico retinico e coroideale, ed in particolare dell'apporto ematico alla testa del nervo ottico, i cui vasi afferenti, per il loro piccolo diametro, sono i più sensibili all'azione dell'ET-1^{121, 124}. La vasocostrizione avviene in presenza di elevati livelli del peptide, mediante l'attivazione dei recettori ET_A sulle cellule muscolari lisce della parete vascolare; è infatti revertita da antagonisti recettoriali specifici e dai calcio-antagonisti^{248, 311}. A concentrazioni basse quali sono quelle basali l'ET-1 promuove invece la dilatazione vasale, attraverso l'aumento del NO, mediato dai recettori ET_B in sede endoteliale. In condizioni di normale regolazione del tono vascolare coroideale l'azione vasodilatante del nitrossido prevale su quella vasocostrittrice delle endoteline e pertanto la ET-1 svolge un ruolo di regolazione del flusso ematico oculare al fine di mantenere uno stato di costante vasodilatazione e permettere un adeguato apporto ematico alle strutture oculari, ed in particolare alla testa del nervo ottico²⁰⁷. Dati sperimentali hanno mostrato che elevati livelli non solo perioculari, ma anche plasmatici, di ET-1 non influenzano l'emodinamica sistemica, mentre hanno un potente effetto vasocostrittore a livello retinico e coroideale, a testimonianza di una particolare sensibilità della microcircolazione oculare a squilibri nell'omeostasi del tono vascolare locale¹²¹. L'alterata regolazione del flusso ematico a livello della testa del nervo ottico è un fattore determinante nella fisiopatologia dell'otticopatia glaucomatosa, in particolare nel GTN. Tale disregolazione appare strettamente legata ad uno squilibrio tra i due principali agenti vasoattivi, l'ET-1 e il NO, che comporta alterazioni rilevanti nelle interazioni tra queste due molecole e conduce in ultima analisi ad una riduzione del flusso ematico oculare, e soprattutto dell'apporto ematico alla TNO, aspetto cruciale per lo sviluppo e la progressione dell'otticopatia glaucomatosa.

- **ATTIVAZIONE DELLE CELLULE GLIALI:** la glia, ed in particolar modo la popolazione cellulare astrocitaria, è fondamentale per la vita e la funzionalità delle cellule ganglionari retiniche

²¹³. E' noto che l'eccesso di glutammato promuove l'apoptosi delle RGC attraverso meccanismi di eccitotossicità ²⁹⁵. Livelli elevati di glutammato si ritrovano, nell'occhio come nell'encefalo, in seguito all'attivazione ed alla proliferazione degli astrociti, ossia all'astrogliosi. Tali processi sono indotti a livello oculare da fattori meccanici, vale a dire dall'aumento della PIO, e da fattori vascolari, rappresentati sostanzialmente dall'ischemia. Il ruolo dell'ET-1 nell'astrogliosi appare direttamente legato alla sua azione mitogena, causa della proliferazione gliale, ed è comunque collegato ai suoi effetti vascolari. La fonte di ET-1 responsabile dell'astrogliosi è verosimilmente costituita dalle cellule dell'epitelio pigmentato retinico, stimulate da valori elevati di PIO o da stati ipossici riconducibili a vasospasmo ²³². La produzione del peptide, che sembra agire sugli astrociti della testa del nervo ottico con meccanismo paracrino, potrebbe pertanto essere stimolata da alte concentrazioni plasmatiche di ET-1 le quali, provocando vasospasmo e conseguente ipossia, indurrebbero un'aumentata sintesi di ET-1 nell'epitelio pigmentato retinico e negli astrociti stessi ³¹¹. L'astrogliosi danneggia il nervo ottico poiché induce l'eccitotossicità da glutammato, ostacola il flusso assoplasmico, ed inibisce la crescita neuronale per la deplezione di neurotrofine ^{139, 213}.

Il ruolo dell'ET-1 nel glaucoma è stato per lo più investigato in relazione al vasospasmo, sulla scorta di studi condotti in ambito internistico, in particolare reumatologico, che hanno evidenziato un significativo aumento dei livelli plasmatici di ET-1 in soggetti affetti da sindromi vasospastiche. Più precisamente, alte concentrazioni plasmatiche di ET-1 sono correlate alla presenza del fenomeno di Raynaud ^{201, 315}.

Gli studi volti a valutare l'importanza dell'ET-1 in ambito oculare si sono concentrati prevalentemente sui pazienti con glaucoma normotensivo, quelli nei quali il meccanismo preponderante di danno al nervo ottico appare di natura vascolare.

In questi lavori i livelli di ET-1 sono stati misurati nel plasma e talora anche nell'umor acqueo. Gli autori, in larga maggioranza concordi sul fatto che tali livelli risultino più elevati nei soggetti glaucomatosi rispetto ai controlli sani, hanno effettuato ricerche volte ad indagare aspetti peculiari della fisiopatologia del glaucoma presumibilmente legati all'ET-1 ed hanno studiato le possibili correlazioni dell'ET-1 con alcuni fattori vascolari coinvolti nella patogenesi dell'otticopatía glaucomatosa.

La presenza di valori elevati nel plasma e nell'umor acqueo di soggetti glaucomatosi, in particolare affetti da GTN, è stata dimostrata da vari autori a partire dalla metà degli anni Novanta ^{32, 156, 281}. La rilevanza dell'ET-1 quale fattore di rischio vascolare è stata oggetto di svariate *review*, alcune molto recenti, in cui viene discusso il ruolo dei fattori di rischio vascolari, dei quali fanno parte le disfunzioni endoteliali, nella patogenesi dell'otticopatía glaucomatosa, soprattutto nei casi di GTN

47, 77, 122, 123, 234, 236, 309, 311.

Gass et al hanno mostrato che la vasocostrizione periferica, ottenuta mediante iniezione intraarteriosa di ET-1 a livello dell'avambraccio, risulta maggiore nei soggetti con glaucoma, sia iperbarico che normotensivo, che hanno più bassi valori di pressione arteriosa ⁹⁸; gli autori suppongono che la sensibilità all'ET-1 possa essere particolarmente elevata a livello della microcircolazione a causa di una ridotta produzione di NO da parte della nitrossido-sintetasi endoteliale (e-NOS), ed avanzano l'ipotesi che gli effetti osservati nella cute possano essere presenti anche nella testa del nervo ottico, date le simili caratteristiche anatomiche e fisiologiche della microcircolazione in questi due distretti. Tale ipotesi viene vagliata per la prima volta nel presente lavoro.

Henry et al, partendo sempre dall'ipotesi di una disfunzione vascolare endoteliale quale fattore di rischio per l'insorgenza dell'otticopatia glaucomatosa, hanno testato la risposta vasodilatatoria periferica all'infusione di ET-1 e del suo antagonista BQ123, specifico per i recettori ET_A, in soggetti con GTN ed in controlli sani. I due gruppi in studio, che mostravano valori plasmatici basali di ET-1 non significativamente dissimili tra di loro, differivano in maniera altamente significativa nella risposta vasodilatatoria all'iniezione di BQ123; i GTN presentavano infatti una minore dilatazione dei vasi dell'avambraccio rispetto ai controlli. La possibile spiegazione fornita dagli autori è che nei GTN sia presente un'alterazione della sintesi e/o del metabolismo del NO che ostacoli il mantenimento del normale tono vascolare periferico, facendo prevalere l'azione vasocostrittiva dell'ET-1, mentre in condizioni fisiologiche tale azione è efficacemente bilanciata dal NO ¹³⁸.

Uno studio di Nicoletta et al ha evidenziato che, più dei livelli basali di ET-1, sono importanti gli incrementi della concentrazione plasmatica di tale molecola in risposta ad alcuni stimoli vasospastici. Nello specifico, il raffreddamento corporeo ha provocato, in pazienti affetti da GPAA senza storia clinica di vasospasmo, un aumento significativo dei livelli di ET-1 nel plasma rispetto ai controlli sani. Inoltre, i soggetti glaucomatosi nei quali era stata evidenziata la presenza di vasospasmo acrale mediante capillaroscopia associata a test di provocazione termica mostravano una significativa progressione dei difetti perimetrici quando l'esame del campo visivo veniva eseguito subito dopo il raffreddamento corporeo; tale progressione non si verificava nei soggetti glaucomatosi non vasospastici e nei controlli. Il flusso ematico oculare, misurato con metodica HRF (Heidelberg Retina Flowmeter), non risultava significativamente alterato dal raffreddamento in nessun gruppo studiato ²²⁵. Questo studio fa ipotizzare un ruolo dell'ET-1 nella progressione dell'otticopatia glaucomatosa. L'ipotesi è stata verificata da Emre et al in un recente lavoro. Gli autori hanno trovato una correlazione diretta, significativa, tra livelli plasmatici di ET-1 e progressione dei difetti perimetrici in presenza di un buon controllo tonometrico. I risultati vengono

spiegati, secondo tali autori, dalla duplice azione dell'ET-1, provasospastica e proapoptotica, la prima potenzialmente prevalente nei GTN, la seconda forse presente in tutti i tipi di glaucoma ⁶⁴.

L'importanza delle alterazioni vasoregatorie conseguenti a disfunzioni endoteliali nel glaucoma è supportata da un lavoro condotto da Buckley et al in un gruppo di GTN ed uno di controlli sani, nei quali è stata testata la risposta vascolare periferica a varie sostanze vasoattive. La rimozione dell'endotelio non ha influenzato la risposta all'infusione intraarteriosa di potassio e di noradrenalina in entrambi i gruppi, mentre ha incrementato la risposta alla 5-idrossitriptamina (5-HT) nei controlli, non nei GTN. I soggetti glaucomatosi avevano peraltro una risposta vasocostrittiva maggiore dei controlli alla 5-HT ed all'ET-1, in condizioni di endotelio intatto. La nifedipina, farmaco ad azione calcio-antagonista, provocava sia nei GTN che nei controlli una riduzione della vasocostrizione mediata da ET-1. Questi dati, ottenuti su arterie di biopsie glutee, identificano con certezza l'endotelio quale sede cruciale per il mantenimento di un ottimale tono vasale e, quindi, di un'adeguata perfusione tissutale. Il lavoro conferma l'esagerata risposta vasocostrittiva periferica all'ET-1 già riscontrata da Gass et al ^{27, 98}.

Per quanto detto finora, il ruolo svolto dalle interazioni tra ET-1 e NO appare fondamentale nella fisiopatologia dell'otticopatìa glaucomatosa. I rapporti tra le due molecole appaiono complessi, per le azioni esercitate praticamente su tutte le strutture oculari coinvolte nella genesi della suddetta otticopatìa. Le relazioni intercorrenti tra ET-1 e NO riguardo la regolazione della produzione e deflusso dell'umor acqueo e l'attivazione astrocitaria sono state finora dimostrate solo in modelli animali ^{241, 248, 311}. In riferimento agli effetti sul flusso ematico oculare, invece, in letteratura esistono molti studi clinici che supportano l'effettivo ruolo dei due agenti vasoattivi nella genesi e la progressione del glaucoma, in particolare della forma a tensione normale ^{120, 121, 124}.

Nel contesto della teoria vascolare del glaucoma, le alterazioni del metabolismo del NO e dell'ET-1 riguardano un concetto-chiave di questa teoria, cioè il vasospasmo. Non è possibile inquadrare il ruolo del vasospasmo all'interno della fisiopatologia dell'otticopatìa glaucomatosa senza discutere preliminarmente del vasospasmo in sé.

Vasospasmo

Il vasospasmo gioca un ruolo importante nella patogenesi di numerose malattie sistemiche ed oculari. Con questo termine si intende uno stato di "inappropriata vasocostrizione o insufficiente vasodilatazione a livello della microcircolazione" ⁷². La dizione "disregolazione vascolare" è stata

introdotta per indicare la presenza simultanea di vasocostrizione e vasodilatazione in vasi adiacenti⁷⁴.

In medicina per “sindrome vasospastica” si intende una sintomatologia caratterizzata da una risposta vasospastica a stimoli termici (freddo) ed emotivi. Qualora la sindrome si manifesti in forma isolata, si parla di “sindrome vasospastica primaria” (SVP), mentre il “vasospasmo secondario” è presente in svariate patologie sistemiche, soprattutto di natura immunologica; tra di esse si ricordano l’artrite reumatoide, la malattia di Behçet, e la sclerosi multipla^{77, 140}.

Per quanto attiene alla presente trattazione, si fa riferimento alla diatesi vasospastica, cioè alla sindrome vasospastica primaria. La SVP è più frequente nelle donne in età premenopausale; l’incidenza è stimata intorno al 10-15%. Il quadro clinico è tipicamente caratterizzato dalla presenza di estremità corporee fredde, soprattutto le mani, e dalla tendenza all’ipotensione arteriosa sistemica¹⁰². Sintomi e segni relativamente frequenti sono l’emicrania, un basso indice di massa corporea, una ridotta sensibilità alla sete, una maggiore latenza nell’addormentamento, ed il verificarsi di marcati cali della pressione arteriosa durante la notte (*dips* e *overdips*). Gli spasmi cerebrali e coronarici (angina di Prinzmetal) sono rare ma pericolose evenienze in tali pazienti⁷⁷.

Il segno clinico tipico, anche se non patognomonico, della SVP è il fenomeno di Raynaud, al punto che in alcuni casi la dizione “malattia di Raynaud” viene usata come sinonimo di SVP. La malattia di Raynaud consiste infatti nella presenza, in persone altrimenti sane, di un tipico fenomeno che classicamente include tre fasi consecutive: ischemia, con pallore delle dita per costrizione delle arteriole digitali, iperemia, incostante, per dilatazione dei suddetti vasi, e ritorno alla normalità. Tale fenomeno è scatenato prevalentemente dal freddo, con notevoli variazioni interindividuali della soglia di temperatura. E’ di natura puramente funzionale, differenziandosi così dalla forma secondaria, presente per esempio nella sclerodermia, nella quale esistono alterazioni anatomiche microvascolari¹⁰² (figura 5).



Figura 5 Fenomeno di Raynaud (IV e V dito della mano destra e V dito della mano sinistra) (archivio personale).

Una serie di criteri specifici consente di fare la diagnosi differenziale tra Raynaud primario e secondario. Il criterio clinicamente dirimente è la capillaroscopia digitale. Infatti, nelle connettivopatie in cui è evidente il fenomeno di Raynaud si trova un tipico allargamento dei capillari delle dita, assente nelle forme primarie di malattia. La capillaroscopia associata a test di provocazione termica è attualmente l'esame *gold standard* per la diagnosi di fenomeno di Raynaud⁷⁹. Il reperto patognomonico è un prolungato arresto del flusso ematico in seguito ad esposizione al freddo (>12 secondi)¹⁰⁰ (figura 6).



Figura 6 Capillaroscopia normale (*sinistra*): flusso ematico normalmente presente nei capillari ungueali. Capillaroscopia alterata (*destra*): assenza di flusso ematico nei capillari ungueali (archivio personale).

I livelli plasmatici di ET-1 sono un affidabile indicatore di diatesi vasospastica. Soggetti con fenomeno di Raynaud e con capillaroscopia alterata presentano frequentemente alte concentrazioni sieriche di ET-1. L'ET-1 è patogeneticamente importante nella genesi del vasospasmo. E' stato infatti dimostrato che una sua aumentata produzione può promuovere il vasospasmo ²⁰¹. Al contrario, sostanze che incrementino il rilascio di NO a livello endoteliale, come la L-arginina, hanno prodotto un miglioramento della sintomatologia vasospastica ¹⁰³.

Uno squilibrio tra i livelli dei due principali agenti vasoattivi endoteliali, ET-1 e NO, è verosimilmente la causa del vasospasmo. Il fenomeno colpisce selettivamente i vasi di piccolo diametro, arteriole, venule e capillari, della circolazione periferica; il distretto più frequentemente interessato è la cute, in cui la microcircolazione è molto rappresentata. In alcuni casi, tuttavia, possono essere colpiti organi e tessuti interni, come già accennato, con implicazioni cliniche potenzialmente gravi. Nella maggior parte dei casi gli interventi farmacologici non sono necessari. Le misure da mettere in atto per contrastare i disturbi clinici dati dal vasospasmo nella SVP sono: evitare l'esposizione al freddo e l'uso di sostanze con proprietà vasocostrittive (derivati dell'ergot, betabloccanti, caffeina, vasocostrittori nasali), astenersi dal fumo di sigaretta, indossare guanti, calze, ed in generale indumenti caldi ¹⁰². Nei soggetti in cui tali accorgimenti siano insufficienti, i calcio-antagonisti ed i nitroderivati per via orale sono i farmaci maggiormente usati ed efficaci ^{14, 20, 301}. Altri principi attivi potenzialmente utili, come gli inibitori selettivi del *reuptake* della serotonina, e gli antagonisti recettoriali dell'angiotensina II, sono di utilizzo più raro o sono attualmente in fase di studio ^{39, 60}.

La vascolarizzazione della testa del nervo ottico presenta notevoli somiglianze anatomiche con quella della cute. Inoltre, le sostanze vasoattive possono diffondere dal circolo coroideale nei tessuti della testa del nervo ottico, nonostante la presenza della barriera emato-oculare ⁷⁵. La circolazione coroideale, diversamente da quella retinica, non è soggetta ad autoregolazione, ma è regolata da mediatori biochimici tra i quali sono cruciali il NO e l'ET-1. Le arterie ciliari posteriori forniscono l'irrorazione alla coroide ed alla testa del nervo ottico; le suddette sostanze vasoattive sono pertanto fondamentali ai fini della regolazione dell'apporto ematico alla testa del nervo ottico. Questi dati anatomo-fisiologici sono il presupposto per lo svolgimento di ricerche finalizzate a valutare se la diatesi vasospastica possa essere riscontrata a livello oculare, oltre che negli altri già citati distretti corporei.

L'esistenza del vasospasmo oculare è stata dimostrata da molti studi clinici, nei quali sono stati valutati pazienti con quadri obbiettivi diversi.

Le prime segnalazioni di “sindrome vasospastica oculare” facevano riferimento ad alterazioni diffuse del campo visivo in presenza di un’acuità visiva ed un esame oftalmologico nella norma ⁷⁰. Queste alterazioni erano patognomoniche quando scomparivano dopo un breve trattamento con calcio-antagonisti ¹¹⁹.

Le malattie oculari in cui è patogeneticamente implicato il vasospasmo sono tutte multifattoriali, pertanto il peso di questa condizione clinica è variabile a seconda dei casi.

In letteratura si trovano evidenze del coinvolgimento del vasospasmo in presenza di alterazioni vascolari congiuntivali, edema corneale transitorio, occlusioni arteriose e venose retiniche, ischemia coroideale, amaurosi fugace, ed otticopatia ischemica anteriore ^{18, 99, 157, 203, 206, 235}. In alcuni pazienti sono osservabili altri segni clinici di vasospasmo, quali l’emicrania e l’angina di Prinzmetal ⁷⁷. Le prime segnalazioni dell’esistenza della disregolazione vascolare oculare si basavano sull’assunto della correlazione tra funzione visiva e flusso ematico periferico ¹¹⁹. In tempi più recenti è stata dimostrata la veridicità della supposta relazione tra circolazione periferica ed oculare. Esistono infatti correlazioni tra temperatura corneale e digitale, tra flusso ematico della testa del nervo ottico e delle dita, dell’arteria oftalmica e dei capillari del letto ungueale, e dei vasi retrobulbari e della testa del nervo ottico ^{22, 95, 108}.

La patologia oculare nella quale il vasospasmo è stato ed è maggiormente studiato, in ragione dell’effettivo importante coinvolgimento patogenetico, è il glaucoma. L’argomento è stato oggetto di alcune *review* ^{76, 77}.

La disregolazione vascolare oculare è attualmente considerata uno dei fattori di rischio per l’insorgenza e la progressione dell’otticopatia glaucomatosa. Gli studi clinici hanno dato informazioni di rilievo non solo dal punto di vista scientifico, ma soprattutto da quello clinico.

Il vasospasmo in sé, al pari degli altri fattori vascolari, appare di primaria importanza nel glaucoma normotensivo, tuttavia anche nelle altre forme di glaucoma può giocare un ruolo non trascurabile.

Nell’analisi dei molti lavori in argomento, si deve fare una distinzione tra quelli che hanno valutato la diatesi vasospastica, ossia la SVP, in soggetti glaucomatosi, e quelli che hanno specificamente indagato il vasospasmo oculare. La SVP ha una prevalenza relativamente alta nella popolazione generale sana, pertanto la diagnosi di SVP non comporta necessariamente la presenza di vasospasmo oculare, né tantomeno di glaucoma. E’ comunque noto che il vasospasmo sistemico ed oculare spesso coesistono nei pazienti glaucomatosi ⁶³.

Nel 1999 Flammer ha sintetizzato il ruolo del vasospasmo nel glaucoma esprimendo il seguente concetto-chiave: la disregolazione vascolare interferisce con l’autoregolazione e rende l’occhio più sensibile all’aumento della pressione intraoculare ed alla bassa pressione arteriosa diastolica ⁷⁶. Spesso l’ipotensione sistemica fa essa stessa parte di un quadro clinico di vasospasmo. Una ridotta

pressione di perfusione oculare, soprattutto diastolica, è un importante fattore di rischio per il glaucoma ²³.

La disregolazione vascolare può essere in parte dovuta a disfunzioni del sistema nervoso autonomo ¹⁶⁰. Vari autori hanno osservato che la probabilità di trovare segni clinici di vasospasmo è più elevata se il danno glaucomatoso si verifica con bassi valori di PIO ^{26, 249}. Un maggiore coinvolgimento del vasospasmo acrale nei glaucomi normotensivi rispetto agli iperbarici è stato accertato. Nei soggetti con GTN sono stati riportati alti livelli plasmatici ed intraoculari di ET-1, elevata prevalenza di segni tipici della SVP (estremità fredde, emicrania, ipotensione sistemica), ed alterazioni capillaroscopiche caratteristiche ^{47, 73, 101, 243}.

Il vasospasmo oculare è stato indagato da svariato autori mediante diverse tecniche di studio del flusso ematico oculare, quali il Langham pulsatile ocular blood flow system, la laser Doppler flowmetry, e l'ecocolorDoppler oftalmico. L'argomento "flusso ematico oculare" viene trattato in un capitolo a parte del presente lavoro; si fanno qui solo alcuni riferimenti ai lavori che hanno specificamente valutato il vasospasmo oculare in individui affetti da glaucoma.

Alcuni lavori hanno mostrato un'alterata risposta autoregolatoria ai cambiamenti di postura a livello dell'arteria centrale della retina ^{67, 86, 148}. Il freddo è un altro stimolo in grado di indurre vasospasmo oculare, oltre che sistemico, probabilmente sulla base di una disfunzione autonoma ¹⁰⁶. Alterazioni emodinamiche retrobulbari indicative di una vasocostrizione in risposta a bassi valori di pressione di perfusione sono state riportate in diverse forme di glaucoma ^{96, 105, 126, 255}.

Esistono tuttavia segnalazioni che negano l'associazione tra vasospasmo oculare e sistemico ²⁶⁶.

Un lavoro di Gass et al ha dimostrato che l'infusione di ET-1 provoca una vasocostrizione a livello della microcircolazione dell'avambraccio che è significativamente maggiore nei soggetti con bassi valori di pressione arteriosa diastolica ⁹⁸. L'ipotensione sistemica appare quindi un fattore scatenante il vasospasmo, al pari del freddo e di forti stimoli emotivi. Resta da chiarire l'eventuale relazione tra l'insorgenza del vasospasmo oculare e la presenza di ipotensione sistemica e di basse pressioni di perfusione oculare.

Il flusso ematico oculare, e pertanto il vasospasmo oculare, non sono direttamente quantificabili con le metodiche di studio attualmente disponibili. Questa limitazione tecnica rende difficile correlare le risposte di natura vasospastica osservabili a livello della microcircolazione cutanea, il distretto più facilmente studiabile e nel quale si ottengono misurazioni dirette del flusso ematico, con quelle osservabili in sede oculare, nello specifico a livello della testa del nervo ottico.

I fattori di rischio vascolari comprendono le condizioni sistemiche e locali in grado di determinare ipoperfusione della testa del nervo ottico.

Alterazioni della pressione sistemica

Numerosi studi epidemiologici hanno stabilito che le alterazioni della pressione arteriosa sistemica sono fattori di rischio indipendenti per l'esordio e la progressione dell'otticopatia glaucomatosa.

Ipertensione arteriosa: il suo ruolo nella fisiopatologia del glaucoma è molto controverso. Vari studi epidemiologici hanno dimostrato un'associazione positiva tra ipertensione oculare ed ipertensione arteriosa^{30, 51, 166, 181, 202}. E' stato stabilito che tra pressione sistemica e pressione intraoculare esiste una relazione per cui per ogni 10 mmHg di incremento della pressione arteriosa si ha un aumento della PIO pari a 0.2-0.4 mmHg, tuttavia un'entità tale da avere scarso significativo rilievo clinico²³. Un'associazione significativa tra ipertensione arteriosa e glaucoma iperbarico è stata dimostrata^{23, 210, 237, 287, 304}.

L'attuale orientamento, derivato dai risultati dello studio Baltimore Eye Survey, è quello di considerare l'ipertensione, di grado lieve e recente insorgenza ed in soggetti più giovani, di età inferiore a 60 anni, un fattore protettivo, capace di controbilanciare la ridotta irrorazione della testa del nervo ottico provocata dall'ipertono oculare. Al contrario, l'ipertensione cronica, in soggetti di età superiore a 70 anni, causa una vasculopatia a carico del microcircolo tale da determinare ipoperfusione della testa del nervo ottico²⁷⁴. L'ipertensione di lunga data, inoltre, potrebbe provocare una perdita della capacità di autoregolazione dei vasi sanguigni che conseguentemente non riuscirebbero a contrastare bassi valori di pressione di perfusione⁷⁸.

Ipotensione arteriosa: l'ipotensione cronica o episodica può condurre ad una considerevole riduzione della perfusione della testa del nervo ottico e causare quindi difetti perimetrici tipici del glaucoma. Questo aspetto clinico appare di particolare importanza nella fisiopatologia del glaucoma a tensione normale. Molti autori hanno separatamente dimostrato l'associazione tra ipotensione arteriosa e glaucoma, soprattutto normotensivo^{56, 110, 155, 181, 182}. Anche i glaucomi iperbarici risentono negativamente della presenza di valori di pressione arteriosa inferiori alla norma, poiché questi compromettono ulteriormente l'afflusso ematico alla testa del nervo ottico, già ridotto dall'ipertensione oculare. Si introduce così il concetto-chiave della pressione di perfusione oculare, che, pur essendo annoverato tra i fattori vascolari, esprime l'interazione tra questi ultimi ed i fattori meccanici, ossia l'ipertono oculare.

L'ipotensione sistemica è un fattore di rischio prognostico per l'otticopatia glaucomatosa, oltre che per la sua insorgenza. L'Early Manifest Glaucoma Trial ha portato ad identificare nella bassa pressione arteriosa un importante predittore della progressione della malattia in termini di

alterazioni papillari e perimetriche con un follow-up di oltre sette anni, fermo restando il ruolo cruciale del controllo tonometrico ¹⁸⁵.

Una menzione a parte va riservata all'ipotensione notturna. La pressione arteriosa cala fisiologicamente durante il riposo notturno del 10-20% rispetto ai valori diurni, in relazione al sonno ed a variazioni ormonali circadiane. In ragione dell'entità della diminuzione pressoria notturna, la popolazione generale, e similmente quella glaucomatosa, viene suddivisa in *dipper* (calo fisiologico), *nondipper* (calo inferiore al 10%), e *overdipper* o *extreme dipper* (calo superiore al 20%) ²⁷⁶ (figure 7 e 8).

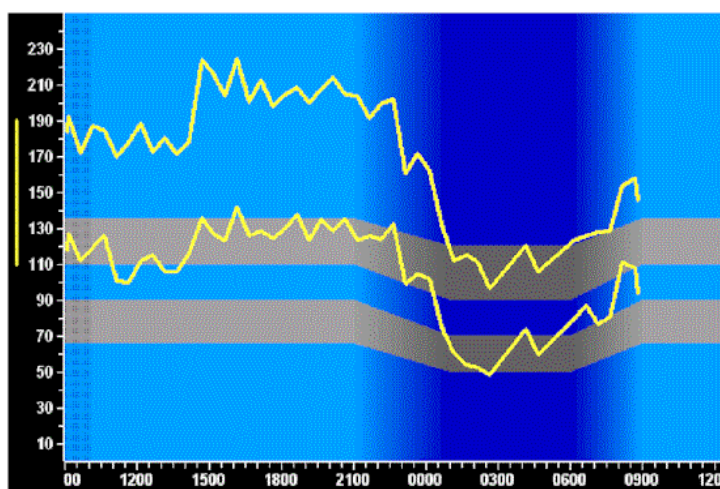


Figura 7 *Overdip* notturno (archivio personale).

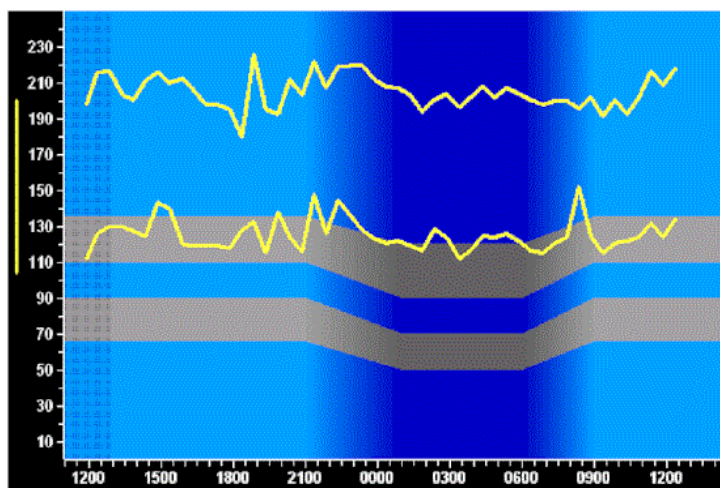


Figura 8 Assenza del fisiologico *dip* notturno (archivio personale).

Il rischio di insorgenza di glaucoma e di progressione del danno perimetrico risulta aumentato in soggetti ipotesiosi arteriosi ed *overdippers*, pur in presenza di valori normali di PIO ^{112, 113, 132}. In uno studio prospettico a quattro anni condotto su pazienti affetti da glaucoma sia iperbarico che

normotensionale il deterioramento del campo visivo è apparso più rapido e di maggiore gravità nel gruppo di pazienti *nondippers* e *overdippers* ²⁸⁹. L'ipotensione notturna può essere fisiologica oppure provocata da terapie antipertensive sistemiche inadeguate. Pertanto, un monitoraggio della pressione arteriosa sistemica nelle 24 ore è potenzialmente utile in tutti i pazienti glaucomatosi. L'esame può dare informazioni importanti ai fini di una corretta gestione di questi pazienti, che implica in alcuni casi una collaborazione con medici internisti, in particolare cardiologi ed angiologi, con l'obiettivo di porre in atto le misure terapeutiche sistemiche, oltre che locali, più efficaci nel preservare la perfusione della TNO.

Alterazioni delle pressioni di perfusione oculare

E' preliminarmente necessario definire alcuni termini. La pressione di perfusione media (PPm) di un tessuto o di un organo è uguale alla differenza tra la pressione arteriosa media (PAM) e la pressione venosa (PV). Il flusso ematico, in ogni distretto corporeo, è direttamente proporzionale alla PP ed inversamente proporzionale alla resistenza al flusso stesso ($F = PP/R$). A livello della TNO la PP equivale alla differenza tra PAM e PIO, essendo quest'ultima necessariamente quasi uguale, ossia appena superiore alla PV, affinché i vasi oculari non collabiscano. Oltre alla PPm esistono la PP_s (pressione di perfusione sistolica), che esprime la differenza tra la pressione arteriosa sistolica (PAS) e la PV, e la PP_d (pressione di perfusione diastolica), che al posto della PAS considera la diastolica (PAD). Nel caso specifico dell'occhio, il calcolo delle pressioni di perfusione viene effettuato mediante le seguenti formule.

$$PPOm = 2/3 PAM - PIO$$

$$PPOs = PAS - PIO$$

$$PPOd = PAD - PIO.$$

Considerato che la PAM è il risultato della somma tra i 2/3 della PAD e di 1/3 della PAS, la formula per calcolare la PPm a livello oculare (PPOm) diviene la seguente:

$$PPOm = 2/3 (2/3 PAD + 1/3 PAS) - PIO.$$

Il flusso ematico della TNO dipende essenzialmente da tre parametri: pressione arteriosa, PIO, e resistenza al flusso. La resistenza al flusso, secondo la legge di Poiseuille, è inversamente proporzionale al raggio del vaso e direttamente proporzionale alla viscosità ematica ed alla lunghezza del vaso; pertanto, i fattori che influenzano la resistenza al flusso sono il calibro del vaso e la sua capacità di autoregolarsi. Lo scopo dell'autoregolazione è quello di mantenere costante il flusso di sangue in un tessuto nonostante le fisiologiche modificazioni della pressione di perfusione.

A livello della TNO il flusso ematico è regolato prevalentemente da agenti vasoattivi di derivazione endoteliale, tra i quali i più noti e significativi sono l'endotelina-1 e l'ossido nitrico.

In soggetti sani il flusso TNO rimane costante per variazioni di PPOm anche di notevole entità. Riva et al hanno dimostrato in un gruppo di volontari sani che la riduzione lenta della PP ottenuta tramite l'innalzamento della PIO fino a 40 mmHg (PPOm 22 mmHg) non comporta modificazioni significative del flusso ematico della TNO, misurato con tecnica laser Doppler flowmetry²⁵⁹. Altri autori hanno confermato queste osservazioni¹⁶³. L'occhio è in grado di mantenere costante la perfusione per aumenti progressivi della PIO fino a valori di PIO di pochi mmHg più bassi della PPO. Ciò presuppone un meccanismo di autoregolazione del circolo coroideale di tipo metabolico che agisce attraverso un aumento del volume ematico a livello della TNO. L'aumento volumetrico riflette un incremento della capacità vascolare distrettuale che viene conseguita per il reclutamento di un maggior numero di capillari perfusi e/o l'aumento del diametro delle venule, entrambi fenomeni che riducono le resistenze al flusso distrettuale, nel caso specifico dell'occhio al flusso della TNO⁵⁹. In definitiva, il flusso ematico a livello della TNO è mantenuto costante entro un ampio *range* di pressioni di perfusione attraverso la riduzione delle resistenze vascolari mediata da sostanze vasoattive che agiscono sulla contrazione e la dilatazione dei vasi della TNO. Nei soggetti con glaucoma può esistere una disregolazione vascolare che impedisce una costante ed ottimale irrorazione della TNO. L'emodinamica oculare può quindi non adattarsi alle variazioni dei parametri circolatori sistemici, determinando un'insufficiente perfusione delle strutture della TNO che può in ultima analisi condurre alla morte delle CGR e dei loro assoni ed alle modificazioni della glia riscontrabili nell'otticopatìa glaucomatosa⁸⁵.

Bassi valori di PPO sono significativamente associati con un'aumentata prevalenza di glaucoma, iperbarico e soprattutto normotensionale, e con una peggiore prognosi funzionale^{186, 287}. Una PPO inferiore al normale è stato recentemente indicata quale fattore predittivo della progressione a lungo termine dell'otticopatìa glaucomatosa¹⁸⁵.

Alcuni autori hanno individuato nella presenza di bassi valori di PPOd un importante fattore di rischio per l'insorgenza e la progressione del glaucoma, particolarmente della forma a tensione normale^{182, 287}. Dall'Egna-Neumarkt Study è emerso che una PPOd inferiore o uguale a 55 mmHg è associata ad una maggiore incidenza di glaucoma; inaspettatamente, il dato è significativo solo nella forma iperbarica²³. Il Barbados Eye Study ha stabilito che una bassa PPOd raddoppia il rischio di peggioramento perimetrico dopo nove anni di malattia in una popolazione di origine africana¹⁸⁶.

Due lavori di recente pubblicazione si sono posti in controtendenza con i dati esposti finora. Orzalesi et al hanno riportato un'associazione positiva tra glaucoma, senza distinzione tra i vari tipi di malattia, ed elevati valori di PPOs²³⁷. Uno studio prospettico con un *follow-up* di circa due anni

non ha mostrato alcuna correlazione tra i livelli di PPOm ed il peggioramento degli indici perimetrici ¹⁷⁵.

Negli ultimi anni è stata data una notevole enfasi alle fluttuazioni della PIO, sia a lungo termine, sia circadiane, in riferimento alla genesi ed alla progressione di tutte le forme di glaucoma. Diverse esperienze cliniche hanno dato risultati concordi nel considerare le ampie fluttuazioni della PIO un predittore attendibile di una peggiore prognosi funzionale ^{7, 82, 146, 191, 229, 286}. L'esecuzione delle curve tonometriche è una tappa fondamentale dell'iter diagnostico dei casi di sospetto glaucoma, al fine di identificare con maggiore probabilità le forme a tensione normale. L'esame è utile anche nel *follow-up* della patologia, per verificare l'efficacia della terapia.

Alcuni autori hanno negato che le fluttuazioni della PIO siano un fattore di rischio indipendente per lo sviluppo e l'evoluzione del glaucoma, affermando che tali fluttuazioni sono comunque strettamente correlate al valore medio della PIO ^{15, 260}.

Sulla scorta delle evidenze scientifiche riguardo l'importanza dei fattori vascolari nel glaucoma, sono state studiate le fluttuazioni diurne della pressione arteriosa e della PPO ^{192, 270}. Sehi et al hanno mostrato che le variazioni diurne della PPOm sono più ampie nei soggetti con glaucoma iperbarico di nuova diagnosi non ancora posti in terapia rispetto ai controlli, suggerendo che le fluttuazioni della PPO possano essere patogeneticamente più importanti di quelle della PIO ²⁷⁰. Choi et al hanno confermato la rilevanza clinica delle fluttuazioni circadiane della PPOm nei glaucomi a tensione normale, riportando un'associazione significativa tra queste fluttuazioni e la gravità dei difetti perimetrici e delle alterazioni morfometriche del disco ottico valutate con GDx ³⁴. Le fluttuazioni delle pressioni di perfusione oculare possono essere associate ad un deficit dell'autoregolazione vascolare a livello della TNO e possono causare una situazione di stress ossidativo attraverso un'aumentata produzione di radicali liberi dell'ossigeno, specialmente nei mitocondri. Il risultato di ciò è il verificarsi, sempre a livello della TNO, del cosiddetto danno da ri-perfusione, che conduce alla morte per apoptosi delle cellule ganglionari retiniche ed a lesioni gliali conseguenti all'attivazione degli astrociti, e quindi allo sviluppo ed all'evoluzione dell'otticopatia glaucomatosa. La dimostrazione del ruolo patogenetico delle fluttuazioni delle pressioni di perfusione oculare ha importanti risvolti nella pratica clinica. E' infatti opportuno utilizzare farmaci antiglaucomatosi in grado di aumentare la pressione di perfusione oculare o comunque di non ridurla, in conseguenza di effetti sistemici. Un recente lavoro di Quaranta et al ha comparato l'effetto sulla PPOd dei farmaci ipotonizzanti topici più comunemente usati ha evidenziato che la dorzolamide ed il latanoprost possono aumentare la PPOd nelle 24 ore, mentre il timololo e la brimonidina possono ridurla, pur essendo significativamente efficaci sulla PIO ²⁵⁴.

Altre patologie sistemiche

Aterosclerosi: è stata indicata come possibile fattore di rischio per la neuropatia ottica glaucomatosa, tuttavia il dato è al momento controverso ^{50, 129}. L'aterosclerosi, infatti, è una malattia che colpisce prevalentemente i grossi vasi, mentre le alterazioni che conducono ad una riduzione del flusso ematico oculare sono per lo più dovute a vasculopatie dei piccoli vasi, in particolare al vasospasmo. La prevalenza dell'aterosclerosi incrementa all'aumentare dell'età, essendo comunque una patologia tipica dei soggetti di età superiore a 50 anni. L'invecchiamento di per sé è un accertato fattore di rischio per il glaucoma, tuttavia è stata dimostrata una riduzione del flusso ematico oculare in primati di età avanzata ed aterosclerotici, a dimostrazione della possibile influenza dell'aterosclerosi anche sui piccoli vasi (arteriolosclerosi) ¹³¹. L'invecchiamento e l'aterosclerosi possono notevolmente alterare la regolazione del flusso ematico oculare in risposta ad ipertono oculare ed aumentare la sensibilità della TNO ai danni ischemici ⁷⁸. Ciò spiega anche il ruolo entro certi limiti bivalente dell'ipertensione arteriosa nei riguardi dell'insorgenza dell'otticopatia glaucomatosa; essa può infatti essere protettiva nei giovani, mentre negli anziani provoca danni vascolari irreversibili che riducono la perfusione oculare anche interferendo negativamente con l'autoregolazione dei vasi della TNO ²⁷⁴.

Patologie cardiovascolari e cerebrovascolari: in letteratura non esiste un consenso sul peso di tali malattie nei pazienti affetti da glaucoma. Tuttavia, vari autori hanno riportato una frequenza significativamente più alta di coronaropatie ed *ictus cerebri* nel glaucoma, particolarmente nella tipologia a tensione normale ^{57, 181, 296}.

Uno studio condotto su oltre 2900 soggetti con glaucoma ha evidenziato una maggiore prevalenza di stenosi carotidea, cardiopatia ischemica, e patologie cerebrovascolari nei pazienti con glaucoma, sia iperbarico che normotensivo, rispetto ai controlli; la differenza non era tuttavia statisticamente significativa ²³⁷. Altri autori hanno riscontrato un aumento pari a 2.5 volte del rischio di progressione a lungo termine (otto anni) del glaucoma nei casi con anamnesi positiva per malattie cardiovascolari ¹⁸⁵. Nei pazienti con GTN è stata segnalata la presenza di lesioni della sostanza bianca cerebrale rivelate dalla risonanza magnetica associate ad ischemia cerebrale ed a deterioramento cognitivo e di infarti cerebrali, nonché di atrofia del corpo calloso ^{233, 278}. In tale contesto può rientrare anche l'associazione del GTN con l'emicrania, considerabile una forma, seppur benigna, di insufficienza vascolare cerebrale ^{45, 297}. La circolazione cerebrale ha importanti somiglianze con quella oculare, soprattutto con quella della TNO. E' quindi verosimile che condizioni di disregolazione vascolare (vasospasmo) siano presenti sia a livello oculare che cerebrale, determinando lesioni ischemiche in entrambi i distretti ¹³.

Il concetto della multifattorialità dell'otticopatìa glaucomatosa risale al 1922, quando Felix Lagrange definì l'occhio glaucomatoso come “un occhio malato in un corpo malato” ¹⁷⁶. Nei decenni successivi molte ricerche hanno avuto come obiettivo quello di individuare condizioni sistemiche associate al glaucoma e di chiarirne un'eventuale implicazione patogenetica.

Al riguardo è opportuno dire preliminarmente che esistono fattori di rischio sistemici peculiari per alcune tipologie di glaucoma, per esempio la sindrome pseudoesfoliativa per il glaucoma pseudoesfoliativo.

La distinzione nell'ambito del GPAA tra glaucoma iperbarico ed a tensione normale è ormai universalmente utilizzata, tuttavia bisogna tenere sempre presente che la separazione, in termini clinici e fisiopatologici, non è netta. In altre parole, la patogenesi delle due forme non è sostanzialmente diversa, ma tutti i fattori di rischio dell'otticopatìa glaucomatosa possono essere implicati, seppure con un peso differente, nel glaucoma iperbarico ed in quello normotensivo, e giocare un ruolo variabile nel singolo paziente. Pertanto, una valutazione sistemica complessiva dovrebbe essere effettuata in ogni soggetto con glaucoma accertato o sospetto. Dall'estesa letteratura scientifica in argomento si evince che tale valutazione ha implicazioni per la diagnosi, la prognosi, e la strategia terapeutica da adottare in ogni paziente.

Una recente *review* ha riassunto le condizioni sistemiche più rilevanti descritte nei soggetti affetti da glaucoma iperbarico, normotensivo, e nell'ipertensione oculare ²³⁹.

L'apparato cardiovascolare appare particolarmente coinvolto nella patogenesi del glaucoma, in special modo della forma a tensione normale. Le alterazioni della pressione sistemica ed il vasospasmo, legato ad uno squilibrio tra agenti vasoattivi endoteliali (ETs, NO), sono infatti reperti di frequente riscontro nei soggetti con glaucoma, soprattutto normotensivo. Sono state descritte altresì alterazioni elettrocardiografiche, per lo più legate ad ischemia miocardica silente, coagulopatie, ed anomalie emoreologiche, il cui eventuale ruolo patogenetico resta tuttavia da chiarire ^{144, 165, 296}. Dei tradizionali fattori di rischio cardiovascolari, l'abitudine al fumo di sigaretta ed il consumo di bevande alcoliche non sembrano aumentare il rischio di insorgenza di glaucoma ¹⁶⁸. Le segnalazioni riguardo alle dislipidemie sono poche e non conclusive ^{19, 44}.

L'influenza del sistema nervoso autonomo (SNA) sulla pressione intraoculare è accertata, ma i precisi meccanismi non sono del tutto noti. Le **disfunzioni del SNA** riscontrate in pazienti affetti da glaucoma a tensione normale hanno dimostrato che il SNA non agisce solo sulla PIO, ma anche sulla regolazione vascolare, sia sistemica che oculare; sono state infatti riscontrate correlazioni significative tra alterazioni del SNA e del flusso ematico oculare ¹⁰⁶.

Le **patologie del sistema immunitario** costituiscono un nuovo settore di ricerca verso il quale c'è un interesse scientifico sempre maggiore. L'autoimmunità è stata chiamata in causa per

spiegare le lesioni della TNO in alcuni pazienti glaucomatosi, specialmente affetti da glaucoma normotensivo ^{31, 117}. Inoltre, cellule del sistema immunitario quali i macrofagi, essendo la sede di sintesi del NO da parte della i-NOS, sono coinvolti nella cascata biochimica che conduce all'apoptosi delle cellule ganglionari retiniche ²⁹⁹.

L'attivazione dei leucociti è stata recentemente studiata in riferimento ai meccanismi biochimici che sottendono al danno da riperfusione a carico della TNO. I dati finora più rilevanti, che necessitano nondimeno di conferma, riguardano prevalentemente i glaucomi a tensione normale. E' stata dimostrata nei monociti circolanti l'*up-regulation* di una metalloproteinasi (MMP-9) coinvolta nel danno da ischemia/riperfusione nell'encefalo, nei muscoli, e nei polmoni ¹¹¹.

Per quanto concerne l'apparato endocrino l'associazione del glaucoma con il diabete, tradizionalmente molto discussa, al momento non è verificata ⁶¹.

Il glaucoma associato all'**orbitopatia tiroidea** è un'entità nosologica ben distinta. L'ipertono oculare, causato dall'aumento della pressione venosa episclerale o da compressione sul bulbo da parte dei muscoli ispessiti e fibrotici, sembra evolvere piuttosto raramente in glaucoma se l'ipertiroidismo viene efficacemente curato ³⁸. L'ipotiroidismo può essere associato ad un aumentato rischio di glaucoma in relazione all'elevata frequenza di malattie autoimmuni (fino al 30%) riscontrabile negli affetti da glaucoma a tensione normale, tuttavia i risultati di vari studi clinici sono contrastanti ^{31, 109, 214}.

Nella **sindrome di Cushing** il deflusso dell'umor acqueo può essere ridotto fino al 50% ²⁷². Quest'effetto sembra almeno in parte mediato dall'espressione del gene TIGR (*Trabecular meshwork Inducible Glucocorticoid Response*), nondimeno molti aspetti patogenetici devono essere chiariti ²²².

Recenti pubblicazioni hanno evidenziato che il danno glaucomatoso si estende dalle cellule ganglionari retiniche fino al nucleo genicolato laterale ed alla corteccia visiva ^{118, 314}. E' stata ipotizzata una similitudine patogenetica tra la **malattia di Alzheimer** ed il glaucoma ed esistono evidenze a supporto di tale ipotesi ¹². Alcune mutazioni genetiche, quale il polimorfismo ε-4 del gene APOE (Apolipoproteina E), sono state associate ad una maggiore incidenza sia di Alzheimer che di glaucoma a tensione normale, purtuttavia ulteriori studi sono necessari per stabilire un eventuale nesso tra le due malattie ²⁹².

Alterazioni del flusso ematico oculare²⁵³

La teoria patogenetica vascolare dell'otticopatìa glaucomatosa afferma che il danno alle cellule ganglionari retiniche ed ai loro assoni avviene con un meccanismo di tipo ischemico, oltre che per gli effetti compressivi determinati da un aumento della pressione intraoculare, come asserito dalla teoria meccanica.

Un ridotto apporto ematico alla testa del nervo ottico può essere causato da patologie sistemiche quali le alterazioni della pressione arteriosa ed il vasospasmo. Alterazioni del flusso ematico oculare possono associarsi a tali condizioni, oppure essere presenti indipendentemente da esse.

Nell'ambito dei fattori vascolari le alterazioni del flusso ematico oculare sono divenute negli ultimi anni un fattore di rischio di grande interesse per lo sviluppo e la progressione del glaucoma. Varie metodiche di studio della circolazione della testa del nervo ottico sono disponibili nella pratica clinica. Ognuna di esse indaga alcuni aspetti dell'emodinamica oculare, fornendo pertanto informazioni diverse che contribuiscono tutte alla valutazione dello stato funzionale della vascolarizzazione della testa del nervo ottico. In questa sede vengono illustrati i metodi di studio del flusso ematico oculare che sono maggiormente utilizzati e che hanno procurato evidenze scientifiche delle modificazioni del suddetto flusso nei soggetti affetti da glaucoma.

Pulsatile ocular blood flow (Pulsatile Ocular Blood Flow system, POBF)

L'apporto ematico arterioso al bulbo oculare ha una componente pulsatile legata all'alternanza di sistole e diastole in ogni ciclo cardiaco. Il POBF è un pneumotonometro che misura le variazioni della PIO con il ciclo cardiaco, cioè l'ampiezza del polso oculare, ed è quindi un indicatore del flusso ematico oculare pulsatile (figura 9). Il polso oculare esprime le variazioni volumetriche ematiche nelle due fasi del ciclo cardiaco: in sistole vi è una maggiore quantità di sangue nel letto coroideale e quindi la PIO è più elevata, mentre in diastole tali valori sono inferiori. Clinicamente il polso oculare è funzione della quantità di sangue che in modo ritmico, pulsatile, riempie e svuota il letto coroideale. Essendo il flusso coroideale circa il 90% del flusso oculare totale, la sua quantificazione, misurata in $\mu\text{l}/\text{min}/\text{mmHg}$, è indicativa del flusso ematico diretto alla testa del nervo ottico. Lo strumento è poco invasivo e facile da usare, tuttavia non risulta sufficientemente attendibile per una precisa valutazione della perfusione coroideale in quanto non considera la componente di flusso non pulsatile ed è dipendente dalla PIO.

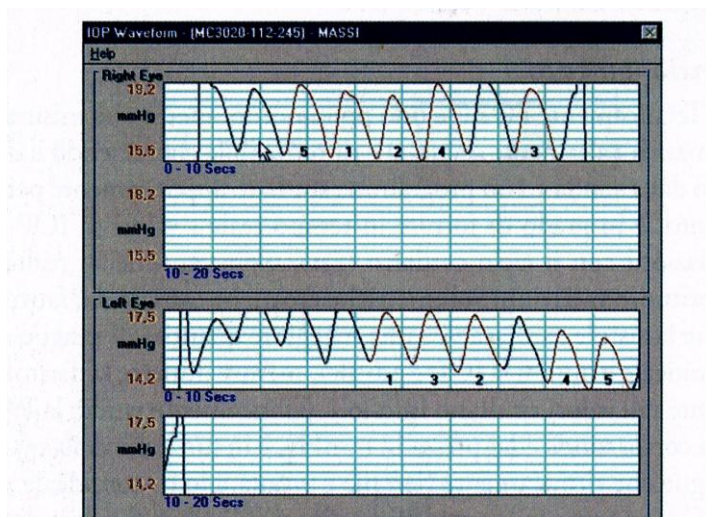


Figura 9 Tracciato di un esame eseguito mediante Pulsatile Blood Flow system (archivio personale).

La maggior parte degli studi clinici ha trovato una riduzione del flusso ematico pulsatile nei glaucomi rispetto ai controlli. Gli studi condotti su occhi affetti da GTN hanno dimostrato una significativa diminuzione del POBF nei pazienti confrontati con i controlli ^{148, 250}. La correlazione positiva tra bassi valori di POBF e difetti perimetrici nei GTN supporta l'ipotesi che la riduzione del flusso ematico oculare abbia un effettivo ruolo patogenetico ⁸¹.

Heidelberg Retina Flowmeter (HRF)

E' uno strumento concepito per lo studio della microcircolazione retinica che fornisce una mappa perfusionale in due dimensioni. Esso sfrutta l'effetto Doppler che subisce la frequenza di un raggio luminoso quando attraversa un fluido in movimento, nella fattispecie il sangue. La luce riflessa dagli eritrociti, a differenza di quella riflessa dai tessuti circostanti, subisce uno *shift*; si crea così una duplice componente luminosa che dà luogo ad un'oscillazione dell'intensità luminosa rilevata. La frequenza di oscillazione dell'intensità equivale all'effetto Doppler, che viene trasformato in un'oscillazione di frequenza misurabile, nel range dei KHz. L'ampiezza dell'intensità di oscillazione è proporzionale alla velocità di transito degli eritrociti. Un laser a diodo invia un raggio laser a fuoco sulla superficie retinica con direzione variabile al fine di scansionare una determinata area retinica, quella che si vuole studiare. Durante ogni scansione lo strumento misura l'intensità della luce riflessa dalla retina ed estrapola il volume, il flusso, e la velocità. Nella mappa perfusionale le aree di scarsa perfusione sono raffigurate in nero, mentre quelle ad alto flusso appaiono brillanti (figura 10). E' una tecnica non invasiva, di rapida esecuzione, promettente per lo studio dell'emodinamica della papilla e della regione peripapillare.

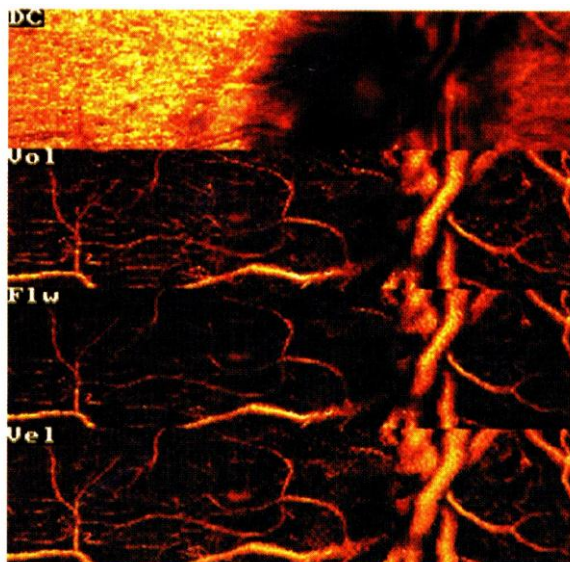


Figura 10 Immagine ottenuta mediante Heidelberg Retina Flowmetry (archivio personale).

I lavori condotti utilizzando l'HRF hanno evidenziato riduzioni di flusso a livello della rima neurale analoghe in soggetti con glaucoma iperbarico e normotensivo, rispetto ai controlli sani ^{152, 193, 223}. I settori nei quali il flusso è inferiore corrispondono topograficamente ai difetti perimetrici ³⁷. Le misurazioni del flusso retinico e papillare ottenute con questa metodica, che ha dimostrato una buona affidabilità e riproducibilità, mostrano una buona correlazione con i parametri emodinamici retrobulbari misurati con ecocolorDoppler (ECD) ^{22, 147, 224}. L'associazione di HRF e ECD potrebbe essere utile nella gestione dei soggetti con glaucoma; sono nondimeno necessari ulteriori studi, possibilmente prospettici, per confermare l'utilità di queste indagini e validarne l'impiego nella pratica clinica.

EcocolorDoppler

L'ecocolorDoppler è una metodica di studio della circolazione oculare non invasiva e di relativamente semplice esecuzione. Consente di ottenere dati importanti riguardo l'emodinamica retrobulbare, quindi riguardo l'apporto ematico all'intero bulbo oculare. Tra le metodiche disponibili per lo studio del flusso ematico oculare, l'ECD appare la più utile nella diagnosi e nel follow-up dei pazienti glaucomatosi, in quanto fornisce informazioni dirette sulle caratteristiche del flusso ematico all'interno dei vasi che irrorano la testa del nervo ottico.

Lo strumento che viene utilizzato in oftalmologia è lo stesso impiegato in molte altre branche della medicina, in particolare la cardiologia, l'angiologia, e la ginecologia. Il suo funzionamento si basa sull'effetto Doppler, cioè sul principio per cui le onde ultrasonore, emesse da una sorgente ad una frequenza nota, modificano tale frequenza, riflettendosi su oggetti in movimento, che nel caso della diagnostica vascolare sono rappresentati dagli eritrociti. Dalla

formula che esprime la variazione di frequenza è possibile calcolare la velocità del sangue (V), data da: $V = \Delta F / 2F_0 \cos\theta$, dove ΔF è la variazione di frequenza, F_0 la frequenza del segnale trasmesso, e $\cos\theta$ l'angolo descritto tra l'asse del raggio degli ultrasuoni incidenti e l'asse del vaso esaminato. Con il Doppler non è possibile studiare in maniera attendibile lo strato vascolare coroideale, poiché il tragitto che compiono i vasi di tale strato non ha un andamento univoco. Sono invece ben valutabili i vasi retrobulbari, in particolare l'arteria oftalmica, l'arteria centrale della retina, e le arterie ciliari posteriori brevi (figura 11). La sonda ecografica comunemente usata nello studio della circolazione retrobulbare ha una frequenza di 6 o 7.5 MHz. L'esame fornisce simultaneamente tre informazioni: la morfologia dei tessuti per mezzo dell'ecografia tradizionale B-scan, la visualizzazione dei vasi a colori, e le caratteristiche emodinamiche vasali mediante il Doppler pulsato. In un sistema di assi cartesiani vengono visualizzati in ascisse il tempo ed in ordinate le frequenze; sulla linea di base sono espressi i flussi in avvicinamento alla sonda, al di sotto di essa quelli in allontanamento. La direzione del flusso viene codificata con il colore rosso per i flussi in avvicinamento alla sonda, corrispondenti al sangue arterioso, con il blu quelli in allontanamento, corrispondenti al sangue venoso. I vasi abitualmente studiati sono l'arteria oftalmica, localizzabile in vari punti del suo decorso, l'arteria centrale della retina, reperibile al centro dell'ombra acustica del nervo ottico retrobulbare, e le arterie ciliari posteriori brevi, visualizzabili a lato della medesima ombra (figure 12, 13, e 14).

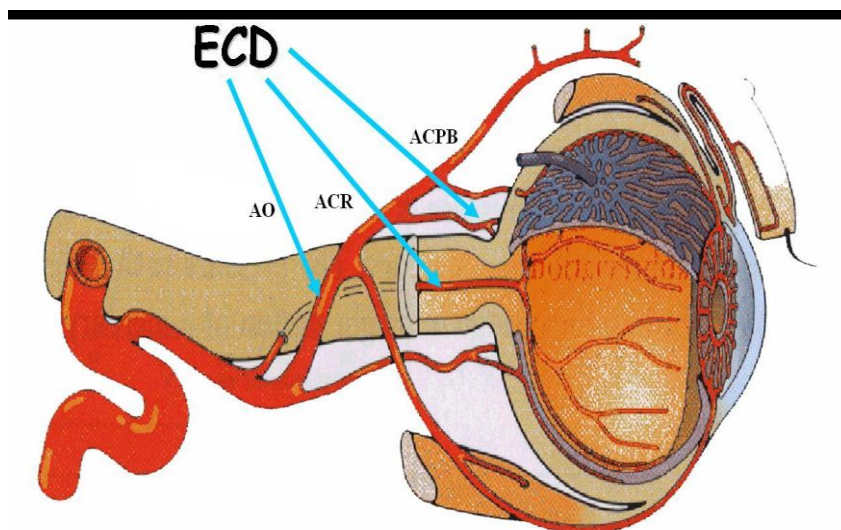


Figura 11 Arterie retrobulbari esaminabili mediante ecocolorDoppler (schema, riprodotto con autorizzazione dell'Autore, da: Flammer J, "Glaucoma", 2000).

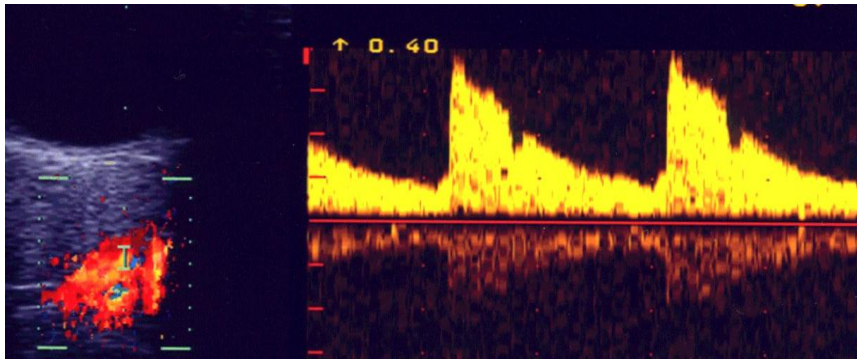


Figura 12 EcocolorDoppler: arteria oftalmica (archivio personale).

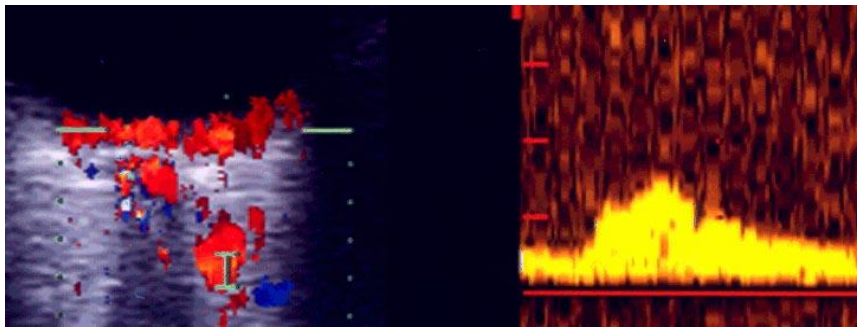


Figura 13 EcocolorDoppler: arteria ciliare posteriore breve (archivio personale).

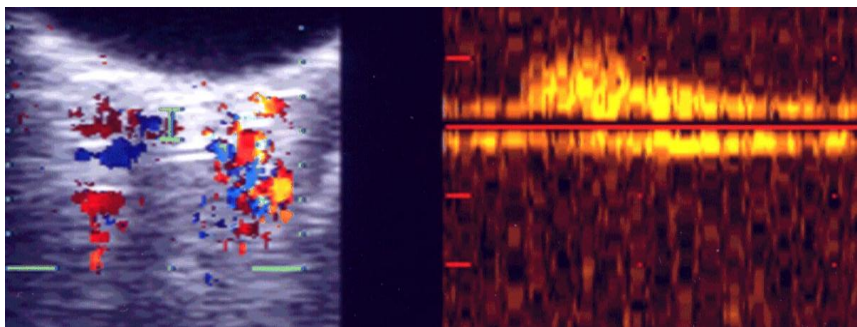


Figura 14 EcocolorDoppler: arteria centrale della retina (archivio personale).

La metodica ecocolorDoppler in oftalmologia non si applica solo alla patologia glaucomatosa, ma può essere utile in altre malattie oculari ed orbitarie in cui sia implicata un'alterazione del flusso ematico locale, quali le occlusioni arteriose e venose retiniche, le otticopatie ischemiche, la retinopatia diabetica, la degenerazione maculare legata all'età, e le fistole carotido-cavernose^{52, 53, 290}. Negli ultimi anni l'ECD è stato comunque prevalentemente utilizzato nella valutazione clinica dei pazienti glaucomatosi, in virtù della sua capacità di informare sulle caratteristiche del flusso ematico a livello della testa del nervo ottico, che è fornito dall'arteria oftalmica e, in ultima analisi, dalle arterie ciliari posteriori brevi.

L'esame viene eseguito appoggiando sulle palpebre del paziente, in posizione supina o seduta, la sonda previa applicazione di un gel accoppiante, evitando di far pressione sul bulbo

oculare per non alterare le misurazioni. E' necessario chiarire che i parametri emodinamici che vengono misurati danno informazioni sulle caratteristiche del flusso ematico locale, ma non permettono di quantificare tale flusso. E' sempre opportuno eseguire anche un ecocolorDoppler dei vasi epiaortici, per valutare l'eventuale presenza di una stenosi carotidea che possa ridurre il flusso ematico oculare. I parametri che vengono misurati mediante ECD sono la velocità di picco sistolica (VS), che corrisponde alla velocità del flusso ematico durante la sistole cardiaca, la velocità telediastolica (VD), che rappresenta la velocità di flusso al termine della fase diastolica del ciclo cardiaco, e l'indice di resistenza di Pourcelot (IR), che si calcola in accordo con la seguente formula: $IR = (VS - VD) / VS$ ed è l'espressione della resistenza incontrata dal sangue nel suo scorrere nei tessuti. L'esame ha una buona riproducibilità, in particolare per l'arteria oftalmica; i parametri piu' affidabili sono la velocità diastolica e soprattutto l'indice di resistenza. Essi sono anche i piu' utili dal punto di vista clinico, perché esprimono la velocità del flusso ematico nella fase piu' lunga del ciclo cardiaco e l'impedenza nel territorio a valle del vaso studiato, rispettivamente.

Numerosi studi clinici hanno dimostrato la presenza di un'emodinamica peggiore nei soggetti glaucomatosi rispetto ai controlli sani. I parametri misurati mediante ECD indicano una riduzione del flusso ematico oculare in varie forme di glaucoma, particolarmente nel glaucoma a tensione normale e nel pseudoesfoliativo, per il quale esistono dimostrazioni di modificazioni vascolari sistemiche e locali patogeneticamente rilevanti ^{49, 96, 199, 209}. Le modificazioni dell'emodinamica retrobulbare riscontrate nei pazienti glaucomatosi consistono nella riduzione delle velocità di flusso sistolica e diastolica e nell'incremento dell'indice di resistenza. La combinazione di valori bassi di VD ed elevati di IR è significativa, in quanto altamente indicativa di una riduzione dell'apporto ematico alla testa del nervo ottico ^{251, 303}. La valutazione della circolazione retrobulbare mediante ECD sembra avere anche un valore prognostico nei pazienti glaucomatosi, anche se la quantità di dati finora disponibili non ha permesso di validare la metodica a tal fine. E' stato infatti dimostrato in pazienti con GPAA che una peggiore emodinamica basale si associa ad un aumentato rischio di progressione dei danni perimetrici a lungo termine ^{91, 200, 318}. E' auspicabile ottenere informazioni analoghe anche nei GTN.

In questa sede faremo riferimento, per semplicità di esposizione, agli studi condotti in pazienti affetti da GTN, ferma restando la presenza di alterazioni emodinamiche retrobulbari di rilievo nei soggetti con altre tipologie di glaucoma.

Nei GTN, e particolarmente nel sottogruppo dei senili sclerotici, le velocità sistolica e diastolica nell'arteria oftalmica risultano inferiori e l'indice di resistenza piu' elevato rispetto ai glaucomi ipertensivi ed ai controlli sani ^{87, 88}. Questi risultati sono in accordo con quelli di Huber et al, che hanno riscontrato un aumento del IR nell'arteria oftalmica nei GTN confrontati con soggetti

sani, e di Butt et al, che hanno trovato valori piu' bassi di VD e piu' elevati di IR rispetto ai controlli ^{28, 145}. Una conferma del ruolo patogenetico delle alterazioni circolatorie a livello della testa del nervo ottico nel GTN viene dai risultati ottenuti da altri autori, che hanno mostrato una riduzione della VD ed un aumento del IR nell'arteria oftalmica dei pazienti con difetti perimetrici piu' avanzati ¹⁷⁰.

Le correlazioni tra l'emodinamica retrobulbare ed altri fattori vascolari implicati nella patogenesi del glaucoma sono state oggetto di alcune ricerche cliniche. Il nostro gruppo ha evidenziato un'associazione significativa tra la riduzione delle velocità sistolica e diastolica nelle arterie ciliari posteriori brevi e la presenza di atrofia peripapillare β , a dimostrazione del ruolo dei fattori vascolari locali nella patogenesi dell'otticopatía glaucomatosa ⁸⁸. Gherghel et al hanno dimostrato la presenza di una diminuzione della VD e di un aumento del IR nell'arteria centrale retinica nei pazienti con cali di pressione arteriosa notturna superiori alla norma rispetto a quelli nei quali i valori pressori durante la notte risultavano nei limiti normali ¹⁰⁵. Numerosi studi, condotti in pazienti con GPAA senza distinzione tra glaucomi iperbarici e normotensivi, hanno suggerito la presenza di una disregolazione vascolare a livello della testa del nervo ottico negli occhi glaucomatosi. Sono state infatti dimostrate alterazioni delle pressioni di perfusione oculare basali ed un deficit di autoregolazione della circolazione retinica in risposta a riduzioni della pressione di perfusione oculare ^{244, 258}. L'effettiva esistenza del vasospasmo oculare è supportata dal riscontro di un aumento della VD e di una riduzione del IR nell'arteria oftalmica rispetto ai valori di base riscontrabili solo nei GTN e non nei controlli, in conseguenza del trattamento con ossido di carbonio, un vasodilatatore cerebrale ¹²⁶. I deficit di autoregolazione vascolare sono stati confermati in uno studio nel quale si dimostra che negli occhi glaucomatosi l'IR dell'arteria centrale della retina non si riduce nel passaggio dalla posizione eretta alla supina, come avviene invece fisiologicamente nei soggetti normali ¹²⁸. Una correlazione negativa tra valori di IR di tutti i vasi retrobulbari ed i valori di pressione di perfusione oculare media e diastolica è stata dimostrata in pazienti con glaucoma iperbarico e con glaucoma pseudoesfoliativo; il dato è indicativo di una risposta vasocostrittiva paradossa a livello della circolazione della testa del nervo ottico ^{96, 104}. In letteratura non sono attualmente disponibili informazioni analoghe riguardo ai GTN.

CLINICA

Il GTN presenta le tipiche alterazioni della papilla ottica e del campo visivo riscontrabili in tutte le forme di glaucoma. Esistono tuttavia alcune peculiarità di cui tenere conto nel corso dell'esame clinico. Nella gestione dei soggetti con GTN sospetto o accertato è necessaria un'attenta valutazione dei fattori genetici e vascolari, oltre che dei fattori meccanici.

La diagnosi di GTN comporta necessariamente l'esecuzione, in tutti i casi sospetti, di una pachimetria corneale, per stabilire l'effettiva normalità della PIO. Valori di spessore corneale centrale inferiori a quelli considerati normali nella popolazione generale (530-545 μ) fanno infatti sottostimare le letture tonometriche ottenute con la metodica che è attualmente il *gold standard*, ossia la tonometria ad applanazione secondo Goldmann, mentre vale il contrario per spessori corneali superiori alla norma⁵⁵. Bisogna considerare comunque che ad oggi non esistono formule universalmente accettate per calcolare il reale valore della PIO in relazione a quello dello spessore corneale. Tra le molteplici tabelle di conversione finora proposte, una che può essere agevolmente utilizzata nella pratica clinica per effettuare le correzioni della PIO sui valori pachimetrici è la seguente (tabella 1).

Spessore corneale centrale (μ)	Pressione intraoculare (mmHg)
620	-2.0
610	-1.6
600	-1.2
590	-0.8
580	-0.4
520-570	0
510	+0.4
500	+0.8
490	+1.2
480	+1.6
470	+2.0

Tabella 1 Correzione delle letture tonometriche in base ai valori di spessore corneale centrale.

E' stato dimostrato che lo spessore corneale centrale è significativamente inferiore nei GTN rispetto ai soggetti normali, ipertesi oculari, e glaucomatosi^{41, 62}. Alcuni autori hanno ipotizzato che un basso spessore corneale sia associato ad alterazioni delle proprietà biomeccaniche della cornea che potrebbero essere a loro volta espressione di una maggiore deformabilità di varie strutture oculari, tra cui la lamina cribrosa, con conseguente maggiore sensibilità tissutale all'azione deformante della PIO anche per valori di essa statisticamente nei limiti di norma⁴⁰. Tale ipotesi è comunque attualmente da verificare, mentre rimane indiscussa la necessità, nell'ambito della valutazione clinica dei soggetti con GTN, di eseguire una pachimetria al fine di ottenere la

misurazione dello spessore corneale centrale ed eventualmente correggere i valori di PIO in relazione a tale dato.

Un altro esame fondamentale nell'iter diagnostico dei casi di sospetto GTN è la curva tonometrica, se possibile eseguita nelle 24 ore. Nel GTN, come in tutti i glaucomi, è stata dimostrata la presenza di una considerevole fluttuazione circadiana dei valori tonometrici ^{7, 146}. E' quindi necessario avere informazioni sui valori della PIO nel corso delle 24 ore, o almeno durante le ore diurne, per accertare l'effettiva assenza di picchi pressori che comportino un'erronea diagnosi di GTN in presenza invece di un glaucoma iperbarico.

Effettuare una sicura diagnosi di GTN è fondamentale al fine di gestire nel modo migliore ogni paziente. Il GTN differisce dalla forma iperbarica non solo per i valori tonometrici, ma anche per alcune caratteristiche cliniche peculiari verosimilmente connesse ai fattori vascolari implicati nella patogenesi della malattia.

Per quanto riguarda l'aspetto della papilla ottica, è stata descritta una riduzione della rima neurale piu' marcata che nel glaucoma iperbarico, allo stesso stadio perimetrico ³⁰⁸. Questo dato rifletterebbe, secondo gli autori, la presenza di una minore quantità di tessuto gliale, che potrebbe condizionare una maggiore suscettibilità delle fibre nervose a danni di natura meccanica e vascolare. Le emorragie papillari a fiamma sono considerate un segno altamente indicativo di GTN e sono spesso predittive di un imminente peggioramento in termini di difetti perimetrici ²⁷⁵ figura 15). L'elevata specificità di tale reperto è dimostrata dai risultati di studi secondo i quali le emorragie papillari si riscontrano nel 30% dei GTN, nel 4-7% dei glaucomi iperbarici, e nello 0.4% dei soggetti sani ^{134, 164}. Le emorragie papillari sono un fattore di rischio vascolare locale e si associano spesso alla presenza di atrofia peripapillare di tipo β , che è un'area di assottigliamento o scomparsa della struttura coroideale nelle regioni adiacenti al disco ottico (figura 16). Alcuni autori affermano che tale reperto ha una specificità del 80% nel GTN, mentre altri non hanno dimostrato una prevalenza aumentata dell'atrofia peripapillare β nel GTN rispetto ad altre forme di glaucoma ^{150, 153, 285}.

L'atrofia peripapillare è comunque considerata anch'essa un fattore di rischio vascolare locale, in quanto la sua presenza e la sua estensione correlano con un aumento del rischio di progressione dei deficit perimetrici nei GTN ^{4, 242}. La testa del nervo ottico è irrorata dalla circolazione coroideale, pertanto l'atrofia peripapillare β , riflettendo una riduzione del flusso ematico coroideale, è un verosimile segno di ipoperfusione della testa del nervo ottico ¹⁵¹.

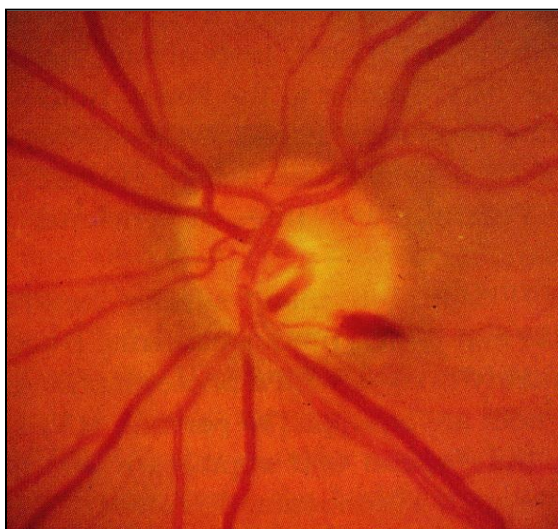


Figura 15 Emorragia epipapillare infero-temporale (archivio personale).

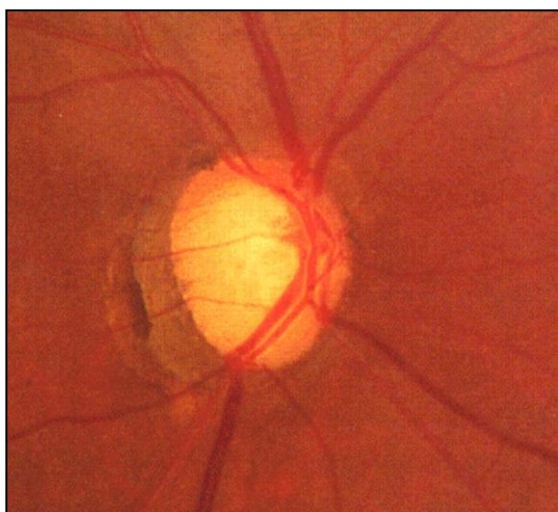


Figura 16 Atrofia peripapillare beta (centrale) ed alfa (periferica) associata a riduzione dello spessore della rima neurale diffuso, ma più evidente nel settore infero-temporale (archivio personale).

Nel GTN è stata riportata una maggiore prevalenza di alcuni deficit perimetrici, in confronto ad altre tipologie di glaucoma. In particolare, i difetti tendono ad essere più localizzati, più frequentemente presenti nell'emicampo superiore, vicini alla fissazione; gli scotomi appaiono inoltre più profondi e ripidi ^{29, 142} (figura 17). Tra le spiegazioni proposte ci sono una diagnosi più tardiva della malattia e, dato patogeneticamente rilevante, la dipendenza dalle sopracitate lesioni papillari, in particolar modo la presenza di emorragie epipapillari ⁵.

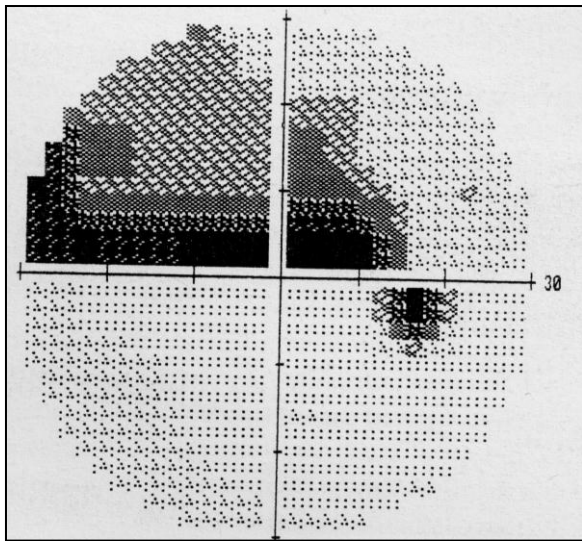


Figura 17 Difetto perimetrico fascicolare interessante il punto di fissazione (Humphrey 24-2) (archivio personale).

Da quanto detto finora, appare consequenziale che le peculiarità fisiopatologiche e cliniche del GTN possano avere una notevole influenza sulle strategie terapeutiche da mettere in atto.

TERAPIA

Il trattamento del GTN si basa fundamentalmente sull'abbassamento della PIO, che è ad oggi l'unico approccio terapeutico del quale sia stata ampiamente dimostrata l'efficacia in termini di riduzione del rischio di progressione dell'otticopatia^{135, 149, 183, 286}. Studi clinici hanno dimostrato che una diminuzione della PIO di almeno il 30% rispetto ai valori basali, pre trattamento, è associata ad una migliore prognosi, ossia ad una stabilità nel tempo dei difetti perimetrici^{1, 46, 227, 268}. Tra i farmaci ipotonizzanti topici, i miotici non hanno attualmente indicazioni d'uso nel GTN. L'opportunità di utilizzare i betabloccanti e gli alfaagonisti è controversa. I primi, in particolar modo quelli non selettivi, potrebbero infatti provocare una riduzione della pressione arteriosa sistemica ed avere effetti vasocostrittori sulla circolazione oculare, influenzando quindi negativamente la perfusione della testa del nervo ottico¹³³. Solo per il betaxololo, selettivo per i recettori β_1 , è presente un razionale terapeutico, dovuto all'azione neuroprotettiva, evidenziata in modelli animali, ed al miglioramento dell'emodinamica retrobulbare, dimostrata nell'uomo¹⁴³. Gli inibitori dell'anidasi carbonica hanno rivelato effetti positivi sull'emodinamica oculare, ma i dati in letteratura non sono conclusivi^{17, 90, 127, 317}. Le prostaglandine e le prostamidi sono attualmente tra i farmaci di scelta nella terapia del GTN, in virtù della loro elevata efficacia ipotensiva; queste molecole non sembrano influenzare significativamente il flusso ematico oculare^{190, 228, 316}.

La trabeculoplastica argon laser non risulta molto efficace nel GTN, pertanto il suo utilizzo è piuttosto limitato nella pratica clinica^{48, 171}. Nei casi in cui la terapia medica è inefficace o insufficiente, come negli altri tipi di glaucoma, si pone l'indicazione alla chirurgia. La trabeculectomia consente di ottenere una percentuale di riduzione della PIO variabile dal 25% al 47%, a seconda dell'uso o meno di antimetaboliti, a fronte di possibili complicazioni tra cui la più frequente è la cataratta^{204, 205}. Non sono invece stati finora condotti studi finalizzati a valutare l'efficacia delle tecniche chirurgiche non perforanti, quali la sclerectomia profonda, nei pazienti affetti da GTN.

Il Collaborative Normal-Tension Glaucoma Study afferma che il 20% dei pazienti va incontro ad una progressione dei danni funzionali nonostante un buon controllo tonometrico²²⁷. Ciò supporta la veridicità della teoria vascolare applicata al GTN, suggerendo l'opportunità di utilizzare in questa patologia terapie complementari mirate a migliorare la perfusione della testa del nervo ottico.

La patogenesi almeno in parte vascolare del GTN giustifica l'utilizzo di farmaci attivi sulla perfusione della testa del nervo ottico. Ad oggi non esistono evidenze assolute sulla reale efficacia di sostanze, integratori alimentari o veri e propri farmaci, che possano migliorare la perfusione oculare. I calcio-antagonisti per via orale, potenzialmente capaci di aumentare il flusso ematico

della testa del nervo ottico per l'azione rilassante sulle cellule muscolari lisce perivasali, essendo dei vasodilatatori periferici, possono causare ipotensione sistemica e quindi riduzione della pressione di perfusione oculare²⁶³.

La neuroprotezione appare una via da perseguire nel trattamento di tutti i glaucomi, e particolarmente nei GTN, dove l'ischemia della testa del nervo ottico è tale da provocare un aumento delle concentrazioni locali di glutammato con conseguente innesco della cascata biochimica proapoptotica maggiore che nelle altre forme di glaucoma^{36, 71}. I farmaci in studio o già in uso sono: gli alfa2-agonisti topici, che stimolano la sintesi di neurotrofine e bloccano il rilascio di fattori proapoptotici di origine mitocondriale; la memantina, antagonista del glutammato sui recettori NMDA; i calcio-antagonisti, capaci di ridurre il danno neuronale mediato dal Ca^{2+} ; la citicolina, che ripara le membrane cellulari danneggiate riducendo l'attivazione di fattori proapoptotici; il ginkgo biloba, antagonista del fattore attivante le piastrine (PAF) e per questo in grado di ridurre l'eccitotossicità del glutammato; l'epigallocatechina gallato, per le sue azioni antiossidanti. Per alcune di queste sostanze esistono evidenze di efficacia clinica nell'uomo, in particolare nel GTN, ma la maggior parte delle informazioni attualmente disponibili deriva da studi *in vitro* o in modelli animali che necessitano di conferme nell'uomo. Uno studio multicentrico su un numero molto alto di pazienti glaucomatosi trattati con memantina è attualmente in corso ed i risultati sono attesi a breve termine^{21, 24, 68, 97, 219, 252, 269, 293, 319}. Nessuna di queste sostanze ha tuttavia dimostrato un'efficacia tale da raccomandarne l'uso nei pazienti con GTN. Il ruolo di queste terapie è attualmente di supporto alla terapia ipotensivante, con la prospettiva che le ricerche in campo farmacologico e clinico diano risultati incoraggianti nei confronti di terapie potenzialmente molto utili nell'arrestare la progressione dei danni glaucomatosi.

SCOPO DELLO STUDIO

Gli obiettivi del presente studio, perseguiti mediante valutazioni clinico-strumentali e successive analisi statistiche, sono i seguenti.

1. Valutare la prevalenza di alcuni fattori di rischio vascolari del glaucoma in un gruppo di soggetti con glaucoma a tensione normale ed in uno di controlli sani ed evidenziare le differenze tra i due gruppi.
2. Stabilire eventuali interrelazioni tra le alterazioni vascolari sistemiche ed oculari riscontrate nel gruppo di pazienti affetti da glaucoma a tensione normale.

MATERIALI E METODI

Lo studio è stato condotto presso la Clinica Oculistica dell'Università degli Studi di Firenze. Le procedure della ricerca sono state effettuate in conformità con le direttive della Dichiarazione di Helsinki. Tutti i pazienti ed i controlli hanno dato il loro consenso scritto all'esecuzione delle procedure dello studio e per l'uso scientifico dei dati personali, che sono stati comunque trattati in maniera anonima.

Sono stati inclusi nello studio due gruppi di soggetti: un gruppo di 44 pazienti con glaucoma a tensione normale di recente diagnosi, non ancora in terapia antiglaucomatosa, ed un gruppo di 40 soggetti sani di controllo. Un solo occhio di ogni soggetto è stato considerato nell'analisi statistica. Per quanto riguarda i pazienti glaucomatosi, nei quali la malattia era sempre bilaterale, sono stati selezionati gli occhi con danni anatomo-funzionali simili; la scelta è stata invece *random* per i controlli.

Nella tabella 2 sono indicati i dati demografici dei soggetti esaminati.

	GTN	Controlli	<i>p</i>
Numero di pazienti (n)	44	40	
Numero di occhi (n)	44	40	
Età (anni)	64.45 ±6.91	62.75 ±7.37	0.277
Genere	24 uomini 20 donne	22 uomini 18 donne	0.843

Tabella 2 Dati demografici dei soggetti esaminati.

Nella selezione dei partecipanti allo studio sono stati applicati i seguenti criteri di esclusione: la presenza di malattie sistemiche che possono interferire con la produzione ed il metabolismo del NO, come il diabete mellito, le patologie occlusive carotidee e cardiache, le patologie cardiovascolari in genere, l'ipertensione, l'abitudine al fumo, e terapie concomitanti con antinfiammatori non steroidei, donatori di NO quali i nitroderivati, steroidi o ACE-inibitori. Sono stati esclusi anche i soggetti con miopia o ipermetropia superiori alle 3 diottrie, con astigmatismo superiore a 1.5 diottrie, affetti da patologie oculari diverse dal glaucoma a tensione normale, ed i soggetti con valori di spessore corneale al di fuori dei limiti della norma (<530 μ e >545 μ). A tutti i soggetti esaminati è stato sottoposto un questionario per indagare la storia clinica personale, con particolare attenzione ai sintomi indicativi di vasospasmo (emicrania, fenomeno di Raynaud, angina di Prinzmetal).

Le valutazioni clinico-strumentali in ogni paziente sono state eseguite nello stesso giorno, al mattino. In tutti i soggetti erano state preliminarmente eseguite una curva tonometrica diurna con 7

letture della PIO tra le 8 e le 20 ed una misurazione della pressione arteriosa nelle 24 ore. Sono stati inclusi nello studio i soggetti nei quali la PIO non ha superato i 21 mmHg durante la curva tonometrica e la pressione arteriosa non ha mostrato né variazioni significative circadiane, né *dips* notturni superiori al 20% o inferiori al 10%.

Tutti i partecipanti allo studio hanno seguito una dieta priva di nitrati per tre giorni prima del prelievo ematico, effettuato tra le ore 7 e le ore 8. Un prelievo di 3 ml di sangue è stato effettuato da una vena dell'avambraccio dopo venti minuti di riposo in posizione seduta. La determinazione dei livelli plasmatici di NO e di ET-1 è stata ottenuta con metodo radioimmunometrico.

Dopo altri venti minuti di riposo in posizione seduta sono state misurate la pressione arteriosa sistolica e diastolica mediante sfigmomanometro di Riva-Rocci.

E' stata quindi effettuata una visita oculistica con misurazione dell'acuità visiva, tonometria Goldmann, esame alla lampada a fessura del segmento anteriore e del *fundus oculi*, gonioscopia, pachimetria corneale ad ultrasuoni, ed esame del campo visivo con perimetro Humphrey, programma 24-2, strategia di soglia piena. Tale esame è risultato nei limiti di norma nei controlli, mentre nei pazienti glaucomatosi ha mostrato deficit perimetrici tipici dell'otticopatologia glaucomatosa ed analoghi, in termini di gravità, tra tutti i pazienti considerati. La classificazione del danno perimetrico è stata fatta utilizzando il Glaucoma Staging System (figura 18). Negli occhi in studio i difetti sono stati classificati come stadio 1L, segno di otticopatologia glaucomatosa iniziale.

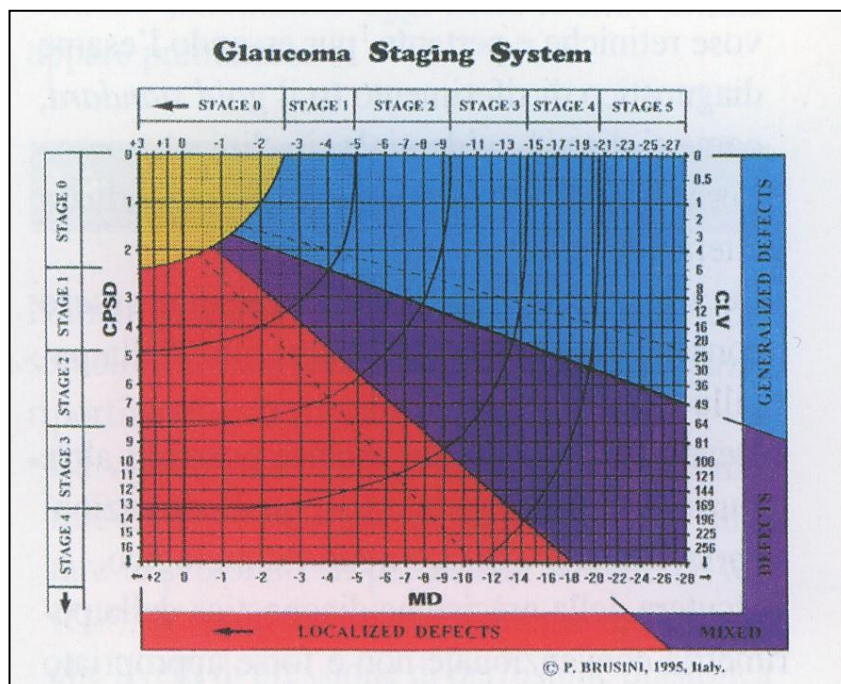


Figura 18 Glaucoma Staging System (riprodotto per gentile concessione del dottor P. Brusini).

Le pressioni di perfusione oculare media e diastolica sono state calcolate in accordo con le seguenti formule: $PPOm = 2/3 (2/3 PAD + 1/3 PAS) - PIO$; $PPOd = PAD - PIO$.

Le caratteristiche dei capillari del letto ungueale sono state studiate mediante un sistema capillaroscopico (micro-SCOPEMAN-Handheld Video Microscope System-MS-500B, Moritex Europe Ltd) in una stanza con temperatura tra i 24 °C ed i 25 °C, dopo un periodo di acclimatazione di venti minuti. E' stato valutato il flusso ematico in condizioni basali e dopo test di provocazione termica (immersione in acqua fredda, a 4 °C, per 60 secondi). La capillaroscopia è stata giudicata alterata quando il test del freddo è risultato positivo, ossia quando il flusso ematico nei capillari non risultava ancora presente dopo almeno 12 secondi dalla sospensione dello stimolo termico.

Lo studio dell'emodinamica retrobulbare è stato eseguito dopo venti minuti di riposo in posizione seduta mediante ecocolorDoppler (Color Doppler Dynaview TM II SSD-1700, Aloka, Tokio, Japan), utilizzando una sonda da 6 MHz. I parametri misurati sono la velocità di picco sistolica (VS), la velocità telediastolica (VD), e l'indice di resistenza (IR), calcolato dallo strumento in accordo con la formula $IR = VS - VD / VS$, nell'arteria oftalmica (AO) e nelle arterie ciliari posteriori brevi (ACPB).

I dati numerici riportati nel lavoro corrispondono ai valori medi \pm deviazione standard (DS). Le analisi statistiche sono state condotte con il programma di *software* Primer per Windows. Per i confronti tra gruppi sono stati utilizzati il test *t* di Student per dati non appaiati ed il test del *chi* quadrato (χ^2). Le correlazioni tra le variabili in studio sono state determinate mediante analisi di regressione lineare. Vengono indicati i coefficienti di correlazione (*r*). I valori di odds ratio (OR) sono calcolati con un intervallo di confidenza (IC) al 95%. Un valore di *p* inferiore o uguale a 0.05 è stabilito come livello di significatività.

RISULTATI

I 44 pazienti ed i 40 controlli inclusi nello studio soddisfano i criteri di inclusione ed esclusione sistemici ed oculari elencati nella sezione “Materiali e metodi”. Il questionario riguardo la storia medica personale non evidenzia la concomitanza di patologie sistemiche e di terapie che possono interferire con i parametri valutati nella presente ricerca. La visita oculistica dimostra la presenza di un quadro oftalmoscopico di otticopatìa glaucomatosa e di difetti perimetrici corrispondenti ai reperti oftalmoscopici in tutti i pazienti; la pachimetria corneale e la curva tonometrica confermano la diagnosi di glaucoma normotensivo. Nei controlli l’esame oftalmologico, la pachimetria corneale, e la perimetria risultano nei limiti della norma.

L’acuità visiva corretta non risulta significativamente diversa tra i GTN ed i controlli (0.90 ± 0.10 vs 0.91 ± 0.10 , $p = 0.635$). Lo spessore corneale centrale è compreso nei limiti di norma nei due gruppi di soggetti esaminati, tra i quali non esistono differenze significative ($538.2 \pm 4.40 \mu$ vs $537.9 \pm 4.38 \mu$, $p = 0.736$). I pazienti ed i controlli differiscono invece in maniera significativa in termini di alterazioni del disco ottico espresse come cup/disc ratio (CDR), avendo i pazienti valori più elevati di CDR (0.62 ± 0.04 vs 0.23 ± 0.09 , $p < 0.001$). L’esame del campo visivo mostra una significativa diversità tra i due gruppi. I pazienti con GTN presentano alterazioni perimetriche indicative di glaucoma iniziale (stadio 1L secondo la classificazione Glaucoma Staging System); queste sono assenti nella totalità dei controlli.

1. PREVALENZA DEI FATTORI DI RISCHIO VASCOLARI NEI PAZIENTI AFFETTI DA GLAUCOMA A TENSIONE NORMALE E NEI CONTROLLI E DIFFERENZE TRA I DUE GRUPPI IN STUDIO

Vasospasmo sistemico

Dall'anamnesi si evince la presenza di sintomi indicativi di vasospasmo in una quota considerevole di pazienti. Infatti, il 45.4% (n=20) dei soggetti con GTN riferisce una storia di emicrania con frequenza almeno settimanale degli attacchi, rispetto al 10% (n=4) dei controlli (χ^2 11.227, $p < 0.001$). Il fenomeno di Raynaud risulta presente nel 36.4% (n=16) dei GTN contro il 5% (n=2) dei controlli (χ^2 10.449, $p = 0.001$). L'esame capillaroscopico eseguito in condizioni basali non mostra alterazioni patologiche in alcuno dei soggetti inclusi nello studio. Dopo test di provocazione termica l'esame risulta alterato nel 72.7% (n=32) dei GNT e nel 5% dei controlli (n=2) (χ^2 37.129, $p < 0.001$) (tabella 3).

	GTN	Controlli	<i>p</i>
Emicrania	45.45%	10.00%	<0.001
Fenomeno di Raynaud	36.36%	5.00%	0.001
Capillaroscopia alterata	72.72%	5.00%	<0.001

Tabella 3 Sintomi e segni clinici di vasospasmo nei due gruppi esaminati.

Nei pazienti con GTN esiste una buona concordanza tra la presenza del fenomeno di Raynaud e la positività della capillaroscopia (χ^2 4.061, OR 9.706 [IC 95% 1.117-84.304], $p = 0.044$). Negli stessi soggetti il fenomeno di Raynaud non risulta associato in maniera statisticamente significativa con il genere femminile (χ^2 1.367, OR 2.576 [IC 95% 0.727-9.124], $p = 0.242$) e con l'emicrania (χ^2 0.020, OR 0.897 [IC 95% 0.261-3.088], $p = 0.886$). Non sono evidenti associazioni significative della capillaroscopia con il genere femminile (χ^2 0.024, OR 1.400 [IC 95% 0.366-5.350], $p = 0.878$) e con una storia di emicrania (χ^2 1.934, OR 0.300 [IC 95% 0.074-1.213], $p = 0.164$).

Pressione intraoculare, pressione arteriosa, pressioni di perfusione oculare

La pressione intraoculare è lievemente più elevata negli occhi affetti da GTN rispetto ai controlli (17.8 ± 1.51 mmHg vs 17.3 ± 1.09 mmHg), tuttavia la differenza non è statisticamente significativa ($p = 0.093$).

Nei soggetti glaucomatosi la misurazione della pressione arteriosa sistolica e diastolica mostra valori inferiori a quelli riscontrati nei controlli (129.1 ± 6.92 mmHg vs 135.2 ± 5.98 mmHg, $p < 0.001$, e 75.68 ± 4.11 mmHg vs 84.38 ± 6.32 mmHg, $p < 0.001$, rispettivamente).

Le pressioni di perfusione media e diastolica risultano inferiori nei GTN rispetto ai controlli (75.68 ± 3.84 mmHg vs 84.23 ± 5.59 mmHg, $p < 0.001$, e 57.89 ± 4.30 mmHg vs 67.07 ± 6.44 mmHg, $p < 0.001$) (tabella 4).

	GTN	Controlli	<i>p</i>
PIO (mmHg)	17.80 ± 1.51	17.3 ± 1.09	0.093
PAS (mmHg)	129.10 ± 6.92	135.2 ± 5.98	<0.001
PAD (mmHg)	75.68 ± 4.11	84.38 ± 6.32	<0.001
PPOm (mmHg)	75.68 ± 3.84	84.23 ± 5.59	<0.001
PPOd (mmHg)	57.89 ± 4.30	67.07 ± 6.44	<0.001

Tabella 4 Valori delle pressioni intraoculare (PIO), arteriosa sistolica e diastolica (PAS e PAD), e di perfusione oculare media e diastolica (PPOm e PPOd) nei due gruppi esaminati.

Livelli plasmatici di ET-1, cGMP, e NO₂

Le determinazioni dei livelli plasmatici di endotelina-1 e dei due *markers* del nitrossido (cGMP e NO₂) rivelano differenze significative tra i due gruppi di soggetti esaminati.

I valori dell'ET-1 risultano infatti più elevati nei GTN che nei controlli (1.62 ± 0.22 pg/ml vs 1.12 ± 0.20 pg/ml, $p < 0.001$). Il cGMP ed il più specifico NO₂ sono presenti in concentrazioni inferiori nei GTN rispetto ai controlli (1195.19 ± 88.17 pmol/mg prot vs 1971.13 ± 134.90 pmol/mg prot, $p < 0.001$, e 142.17 ± 14.34 μmol/mg prot vs 231.30 ± 6.16 μmol/mg prot, $p < 0.001$). Sia nei GTN che nei controlli esiste una correlazione positiva tra i livelli plasmatici di cGMP e di NO₂ ($r = 0.846$, $p < 0.001$, e $r = 0.300$, $p = 0.059$, rispettivamente). Nei due gruppi di soggetti non sono invece evidenti correlazioni significative tra i livelli di ET-1 e di cGMP ($r = -0.061$, $p = 0.689$ nei GTN e $r = -0.167$, $p = 0.300$ nei controlli) e tra quelli di ET-1 e di NO₂ ($r = -0.064$, $p = 0.675$ nei GNT e $r = -0.190$, $p = 0.238$) (tabella 5).

	GTN	Controlli	<i>p</i>
ET-1 (pg/ml)	1.62 ± 0.22	1.12 ± 0.20	<0.001
cGMP (pmol/mg prot)	1195.19 ± 88.17	1971.13 ± 134.90	<0.001
NO₂ (μmol/mg prot)	142.17 ± 14.34	231.30 ± 6.16	<0.001

Tabella 5 Livelli plasmatici di endotelina-1 (ET-1) e dei *markers* del nitrossido (cGMP, NO₂) nei due gruppi esaminati.

Emodinamica retrobulbare

Lo studio mediante ecocolorDoppler rivela la presenza di un'emodinamica retrobulbare peggiore negli occhi affetti da GTN che negli occhi sani. Le velocità di flusso sistolica e diastolica risultano significativamente minori negli occhi glaucomatosi nell'arteria oftalmica e nelle arterie ciliari posteriori brevi. L'indice di resistenza in entrambi i vasi studiati è significativamente maggiore negli occhi con GTN rispetto ai controlli. Nella tabella 6 sono elencati, per ognuno dei parametri emodinamici misurati, i dati numerici ed il livello di significatività statistica ottenuto dal confronto tra i due gruppi di occhi.

	GTN	Controlli	<i>p</i>
VS-AO (cm/sec)	25.43 ±5.34	32.9 ±6.17	<0.001
VD-AO (cm/sec)	5.87 ±1.17	11.41 ±2.30	<0.001
IR-AO	0.76 ±0.03	0.64 ±0.03	<0.001
VS-ACPB (cm/sec)	11.39 ±2.01	13.36 ±1.88	<0.001
VD-ACPB (cm/sec)	3.57 ±0.52	6.06 ±0.81	<0.001
IR-ACPB	0.67 ±0.05	0.54 ±0.03	<0.001

Tabella 6 Parametri emodinamici retrobulbari nei due gruppi esaminati.

2. INTERRELAZIONI TRA LE ALTERAZIONI SISTEMICHE ED OCULARI NEI PAZIENTI AFFETTI DA GLAUCOMA A TENSIONE NORMALE E NEI CONTROLLI

Correlazioni tra i sintomi e segni clinici e strumentali di vasospasmo ed i livelli plasmatici di ET-1, cGMP, e NO₂

La prevalenza dell'emicrania non appare correlata con le concentrazioni plasmatiche di ET-1. Infatti, nei pazienti con storia di emicrania non si rilevano valori di ET-1 significativamente più alti che nei pazienti non affetti (1.65 ± 0.21 pg/ml vs 1.59 ± 0.22 pg/ml, $p = 0.332$). I livelli dei *markers* del NO, cGMP e NO₂, sono analoghi nei GTN affetti da emicrania ed in quelli non affetti (1203.18 ± 77.36 pmol/mg prot vs 1188.53 ± 97.39 pmol/mg prot, $p = 0.587$, e 141.32 ± 13.18 μmol/mg prot vs 142.87 ± 15.48 μmol/mg prot, $p = 0.723$, rispettivamente).

La positività del fenomeno di Raynaud non è associata alla presenza di maggiori valori plasmatici di ET-1 (1.64 ± 0.23 pg/ml vs 1.60 ± 0.21 pg/ml, $p = 0.596$) nei GTN. Nemmeno i livelli di cGMP e di NO₂ differiscono significativamente tra i pazienti con fenomeno di Raynaud e quelli nei quali il fenomeno è assente (1198.01 ± 93.73 pmol/mg prot vs 1193.06 ± 86.51 pmol/mg prot, $p = 0.833$, e 142.03 ± 15.94 μmol/mg prot vs 142.25 ± 13.64 μmol/mg prot, $p = 0.961$, rispettivamente).

Livelli plasmatici di ET-1 più elevati si riscontrano nei pazienti affetti da GTN in cui la capillaroscopia è alterata (1.66 ± 0.19 pg/ml vs 1.49 ± 0.23 pg/ml, $p = 0.015$). Le concentrazioni di cGMP non differiscono in relazione alla presenza o all'assenza di alterazioni capillaroscopiche (1187.63 ± 98.84 pmol/mg prot vs 1215.35 ± 47.35 pmol/mg prot, $p = 0.360$); lo stesso vale per i livelli di NO₂, che non sono significativamente diversi tra i pazienti con capillaroscopia alterata e quelli in cui l'esame è nella norma (140.58 ± 14.86 μmol/mg prot vs 146.39 ± 12.43 μmol/mg prot, $p = 0.249$).

Nelle tabelle 7, 8, e 9 sono elencati i dati relativi alle differenze dei livelli plasmatici dei due agenti vasoattivi in relazione alla presenza o meno di un quadro clinico-strumentale di vasospasmo.

	Emicrania	Assenza di emicrania	<i>p</i>
ET-1 (pg/ml)	1.65 ± 0.21	1.59 ± 0.22	0.332
cGMP (pmol/mg prot)	1203.18 ± 77.36	1188.53 ± 97.39	0.587
NO ₂ (μmol/mg prot)	141.32 ± 13.18	142.87 ± 15.48	0.723

Tabella 7 Livelli plasmatici di ET-1, cGMP, e NO₂ nei pazienti con o senza emicrania.

	Raynaud presente	Raynaud assente	<i>p</i>
ET-1 (pg/ml)	1.64 ±0.23	1.60 ±0.21	0.596
cGMP (pmol/mg prot)	1198.91 ±93.73	1193.06 ±86.51	0.833
NO₂ (μmol/mg prot)	142.03 ±15.94	142.25 ±13.64	0.961

Tabella 8 Livelli plasmatici di ET-1, cGMP, e NO₂ nei pazienti con o senza fenomeno di Raynaud.

	Capillaroscopia alterata	Capillaroscopia normale	<i>p</i>
ET-1 (pg/ml)	1.66 ±0.19	1.49 ±0.23	0.015
cGMP (pmol/mg prot)	1187.63 ±98.84	1215.35 ±47.35	0.360
NO₂ (μmol/mg prot)	140.58 ±14.86	146.39 ±12.43	0.249

Tabella 9 Livelli plasmatici di ET-1, cGMP, e NO₂ nei pazienti con capillaroscopia alterata o normale.

Nel gruppo dei controlli non è evidente alcuna associazione tra i sintomi ed i segni clinico-strumentali di vasospasmo sistemico ed i valori plasmatici delle sostanze vasoattive di origine endoteliale ($p > 0.05$ per tutte le correlazioni).

Nei due gruppi di soggetti in studio sono state valutate le eventuali correlazioni esistenti tra il vasospasmo sistemico ed alcuni parametri indicativi dello stato della circolazione sistemica ed oculare che possono influire sulla perfusione della testa del nervo ottico, ovvero la pressione arteriosa sistolica e diastolica e le pressioni di perfusione oculare media e diastolica.

Correlazione tra i sintomi e segni clinici e strumentali di vasospasmo ed i valori di pressione arteriosa e di pressione di perfusione oculare

Nel gruppo dei pazienti ed in quello dei controlli non sono emerse correlazioni significative tra i dati clinico-strumentali indicativi di sindrome vasospastica primaria ed i valori della pressione arteriosa sistemica sistolica e diastolica e delle pressioni di perfusione oculare media e diastolica ($p > 0.05$ per tutte le correlazioni).

E' stata quindi indagata l'associazione del vasospasmo sistemico con lo stato dell'emodinamica retrobulbare valutata mediante ECD.

Correlazione tra i sintomi e segni clinici e strumentali di vasospasmo ed i parametri emodinamici retrobulbari

I pazienti glaucomatosi che presentano una risposta vasospastica alla capillaroscopia hanno valori di VD-AO significativamente inferiori e valori di IR-AO significativamente superiori rispetto ai pazienti nei quali l'esame dà esito normale (5.64 ± 1.10 cm/sec vs 6.48 ± 1.16 cm/sec, $p = 0.032$, e 0.76 ± 0.03 vs 0.74 ± 0.01 , $p = 0.011$, rispettivamente). Gli altri parametri emodinamici non mostrano differenze significative tra i due sottogruppi di pazienti, benché una tendenza verso una peggiore emodinamica retrobulbare sia presente nei soggetti con capillaroscopia alterata (tabella 10).

Nel gruppo dei controlli sani, nel quale le alterazioni capillaroscopiche sono decisamente rare, i dati ottenuti con ECD non mostrano differenze significative in relazione alla presenza o meno di una risposta positiva alla capillaroscopia ($p > 0.05$ per tutte le correlazioni).

	Capillaroscopia alterata	Capillaroscopia normale	<i>p</i>
VS-AO (cm/sec)	25.38 ± 5.69	25.58 ± 4.50	0.914
VD-AO (cm/sec)	5.64 ± 1.10	6.48 ± 1.16	0.032
IR-AO	0.76 ± 0.03	0.74 ± 0.01	0.011
VS-ACPB (cm/sec)	11.22 ± 1.94	11.84 ± 2.23	0.365
VD-ACPB (cm/sec)	3.53 ± 0.48	3.67 ± 0.65	0.449
IR-ACPB	0.67 ± 0.05	0.68 ± 0.05	0.810

Tabella 10 Correlazione tra la presenza di alterazioni capillaroscopiche ed i parametri emodinamici retrobulbari nei pazienti con GTN.

Nessuna correlazione risulta presente, nei pazienti come nei controlli, tra l'anamnesi positiva per emicrania e fenomeno di Raynaud e l'emodinamica dei vasi retrobulbari ($p > 0.05$ per tutte le correlazioni).

Al fine di determinare l'influenza delle due sostanze vasoattive endoteliali, ET-1 e NO, sulla circolazione sistemica e su quella oculare, e quindi sulla perfusione della testa del nervo ottico, sono state analizzate nei due gruppi di soggetti inclusi nello studio le relazioni esistenti tra i valori della pressione arteriosa e delle pressioni di perfusione oculare ed i livelli plasmatici di ET-1 e dei due *markers* del NO, cGMP e NO₂.

Correlazioni tra la pressione arteriosa e le pressioni di perfusione oculare con i valori di ET-1, cGMP, e NO₂

I pazienti con GTN nei quali le concentrazioni plasmatiche di ET-1 sono più elevate presentano valori più bassi di pressione arteriosa diastolica e di pressione di perfusione oculare diastolica. L'analisi di regressione lineare mostra una seppur debole correlazione negativa tra ET-1 e pressione arteriosa diastolica ($r = -0.304$, $p = 0.044$) ed una correlazione negativa ai limiti della significatività tra ET-1 e pressione di perfusione oculare diastolica ($r = -0.291$, $p = 0.054$) (figure 19 e 20). Una relazione inversa tra ET-1 e pressione di perfusione oculare media è presente, ma non raggiunge la significatività statistica ($r = -0.256$, $p = 0.093$). Le concentrazioni plasmatiche dell'ET-1 non appaiono correlate con le letture della pressione arteriosa sistolica ($r = -0.064$, $p = 0.678$). Nei controlli non sono evidenti associazioni significative tra i livelli plasmatici di ET-1 ed i valori di pressione arteriosa e di pressione di perfusione oculare.

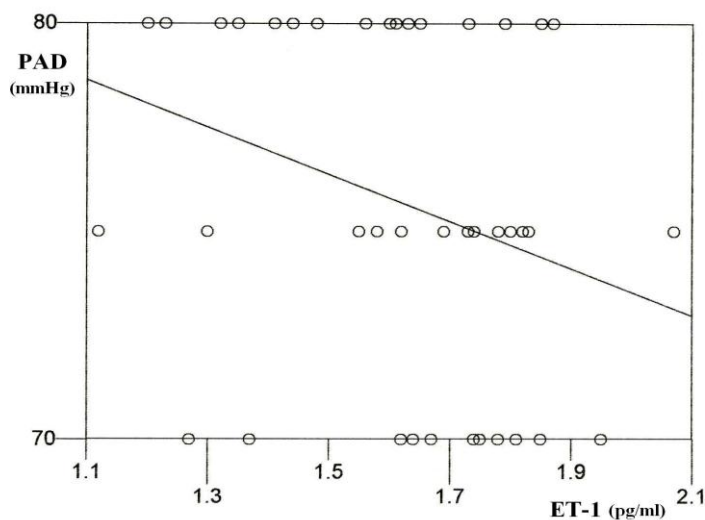


Figura 19 Correlazione tra i livelli plasmatici di endotelina-1 (ET-1) ed i valori della pressione arteriosa diastolica (PAD) nei GTN ($r = -0.304$, $p = 0.044$).

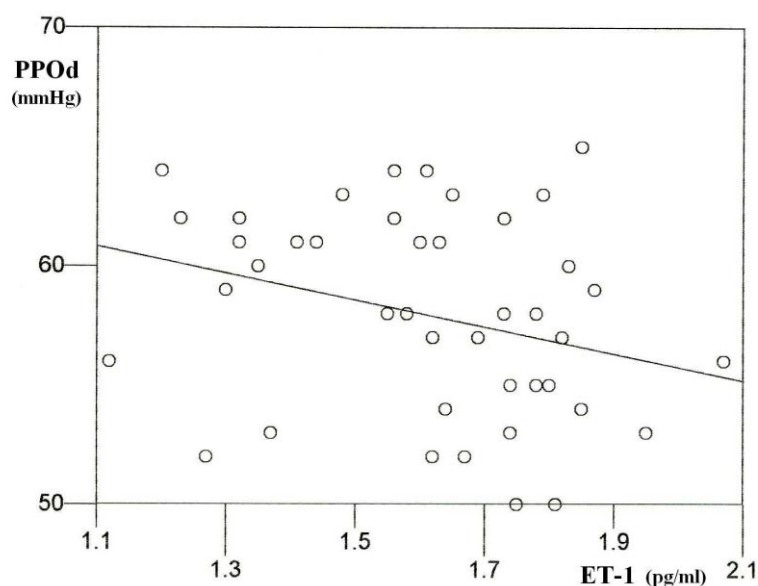


Figura 20 Correlazione tra i livelli plasmatici di endotelina-1 (ET-1) ed i valori della pressione di perfusione oculare diastolica (PPOd) nei pazienti con glaucoma a tensione normale ($r = -0.291$, $p = 0.054$).

Per quanto attiene alle possibili relazioni tra il NO ed i parametri circolatori suddetti, le analisi statistiche non dimostrano alcuna associazione significativa tra gli indicatori del NO ed i valori pressori in entrambi i gruppi di soggetti esaminati ($p > 0.05$ per tutte le correlazioni).

Si segnala comunque che nei GTN è presente un *trend* per il quale livelli più elevati di cGMP e di NO₂ si associano a valori più alti della pressione arteriosa diastolica e della pressione di perfusione oculare diastolica.

Nelle tabelle 11, 12, e 13 sono indicati i coefficienti di correlazione (r) ed il livello di significatività statistica (p) per tutte le correlazioni tra i livelli plasmatici di ET-1, cGMP, NO₂ ed i valori delle pressioni arteriosa sistolica e diastolica e delle pressioni di perfusione oculare media e diastolica nei due gruppi di soggetti in studio.

	GTN	Controlli
ET-1 – PAS	$r = -0.064$, $p = 0.678$	$r = 0.010$, $p = 0.951$
ET-1 – PAD	$r = -0.304$, $p = 0.044$	$r = 0.103$, $p = 0.525$
ET-1 – PPOm	$r = -0.256$, $p = 0.093$	$r = -0.131$, $p = 0.420$
ET-1 – PPOd	$r = -0.291$, $p = 0.054$	$r = 0.154$, $p = 0.341$

Tabella 11 Correlazione tra i livelli plasmatici di endotelina-1 (ET-1) ed i valori della pressione arteriosa sistolica e diastolica (PAS e PAD) e delle pressioni di perfusione oculare media e diastolica (PPOm e PPOd).

	GTN	Controlli
cGMP – PAS	$r = -0.045, p = 0.768$	$r = -0.031, p = 0.849$
cGMP – PAD	$r = 0.190, p = 0.216$	$r = -0.198, p = 0.220$
cGMP – PPOm	$r = 0.114, p = 0.457$	$r = -0.052, p = 0.745$
cGMP – PPOd	$r = 0.187, p = 0.222$	$r = -0.213, p = 0.185$

Tabella 12 Correlazione tra i livelli plasmatici di GMP ciclico (cGMP) ed i valori della pressione arteriosa sistolica e diastolica (PAS e PAD) e delle pressioni di perfusione oculare media e diastolica (PPOm e PPOd).

	GTN	Controlli
NO₂ – PAS	$r = -0.010, p = 0.944$	$r = -0.058, p = 0.720$
NO₂ – PAD	$r = 0.206, p = 0.177$	$r = -0.060, p = 0.711$
NO₂ – PPOm	$r = 0.153, p = 0.319$	$r = 0.015, p = 0.924$
NO₂ – PPOd	$r = 0.208, p = 0.173$	$r = -0.094, p = 0.560$

Tabella 13 Correlazione tra i livelli plasmatici dei nitrati (NO₂) ed i valori della pressione arteriosa sistolica e diastolica (PAS e PAD) delle pressioni di perfusione oculare media e diastolica (PPOm e PPOd).

Correlazioni tra l'emodinamica retrobulbare ed i valori di ET-1, cGMP, e NO₂

I pazienti affetti da GTN che presentano valori piu' elevati di ET-1 hanno anche indici di resistenza piu' alti nell'arteria oftalmica. L'analisi di regressione lineare svela una correlazione positiva ad un elevato livello di significatività statistica ($r = 0.395, p = 0.007$) (figura 21). Non esistono invece correlazioni statisticamente significative tra i livelli plasmatici di ET-1 e gli altri parametri emodinamici retrobulbari ($p > 0.05$ per tutte le correlazioni).

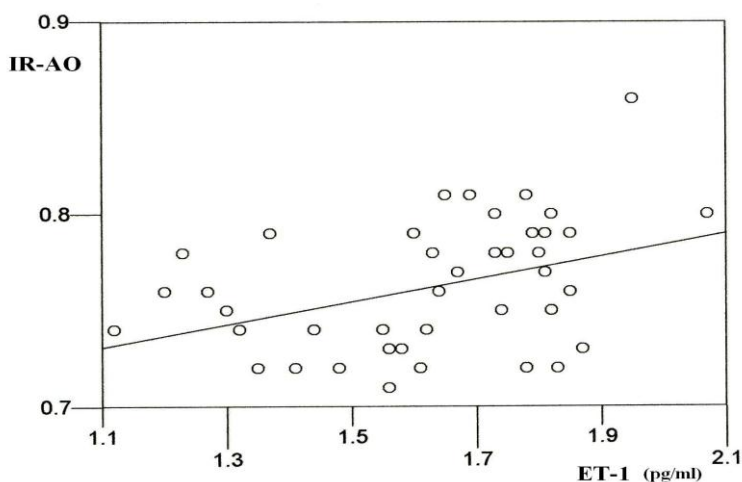


Figura 21 Correlazione tra i livelli plasmatici di endotelina-1 (ET-1) ed i valori dell'indice di resistenza nell'arteria oftalmica (IR-AO) nei GTN ($r = 0.395, p = 0.007$).

Per quanto riguarda i metaboliti del NO, le concentrazioni di cGMP risultano positivamente correlate con i valori della velocità diastolica nelle arterie ciliari posteriori brevi ($r = 0.347$, $p = 0.020$) e negativamente correlate con l'indice di resistenza nell'arteria oftalmica ($r = -0.688$, $p < 0.001$) e nelle arterie ciliari posteriori brevi ($r = -0.305$, $p = 0.043$) (figure 22, 23, e 24).

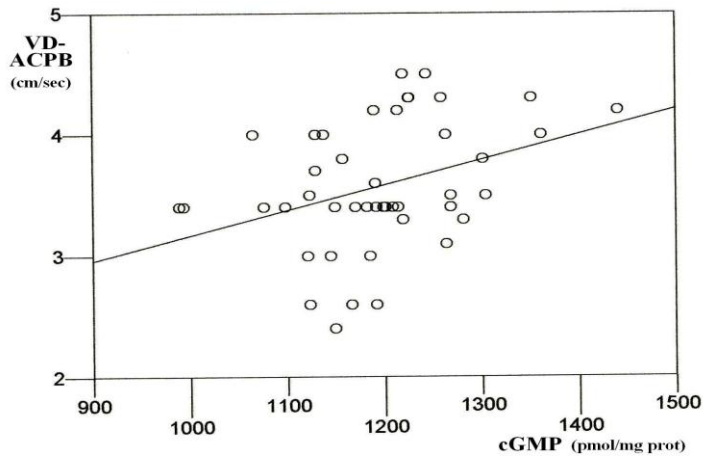


Figura 22 Correlazione tra i livelli plasmatici di GMP ciclico (cGMP) ed i valori della velocità diastolica delle arterie ciliari posteriori brevi (VD-ACPB) nei GTN ($r = 0.347$, $p = 0.020$).

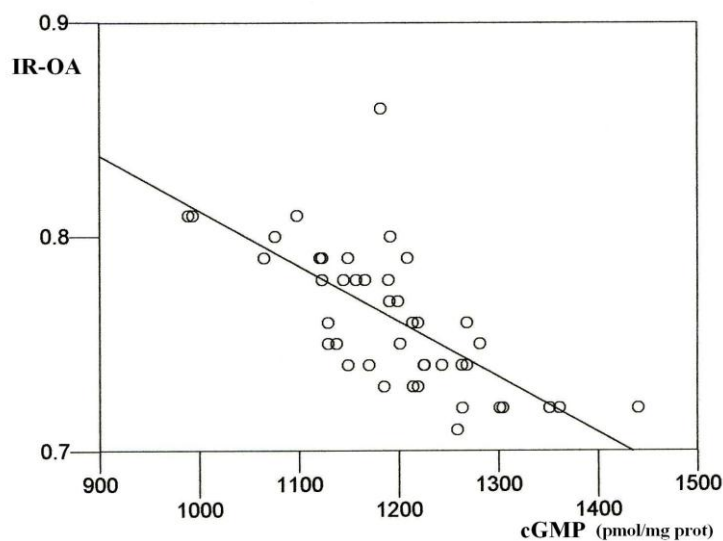


Figura 23 Correlazione tra i livelli plasmatici di GMP ciclico (cGMP) ed i valori dell'indice di resistenza nell'arteria oftalmica (IR-OA) nei GTN ($r = -0.688$, $p < 0.001$).

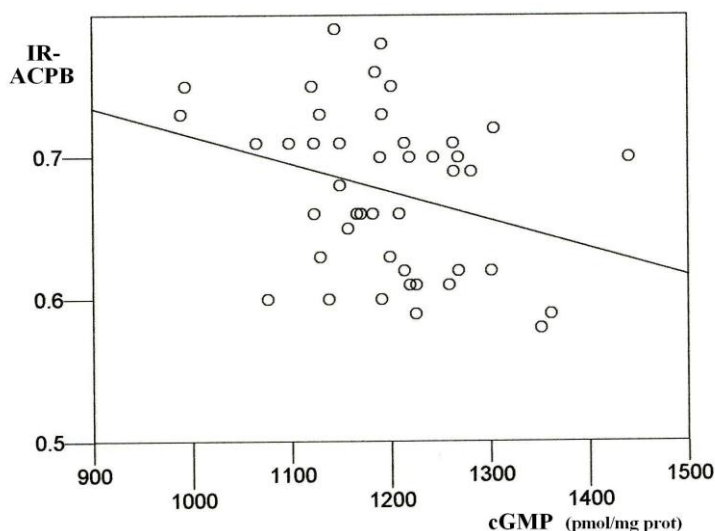


Figura 24 Correlazione tra i livelli plasmatici di GMP ciclico (cGMP) ed i valori dell'indice di resistenza nelle arterie ciliari posteriori brevi (IR-ACPB) nei GTN ($r = -0.305$, $p = 0.043$).

Analogamente, i pazienti nei quali le concentrazioni di NO_2 sono più basse hanno valori significativamente inferiori di velocità diastolica nelle arterie ciliari posteriori brevi ($r = 0.435$, $p = 0.003$) e superiori di indice di resistenza nell'arteria oftalmica e nelle arterie ciliari posteriori brevi ($r = -0.573$, $p < 0.001$, e $r = -0.333$, e $p = 0.026$, rispettivamente) (figure 25, 26, e 27).

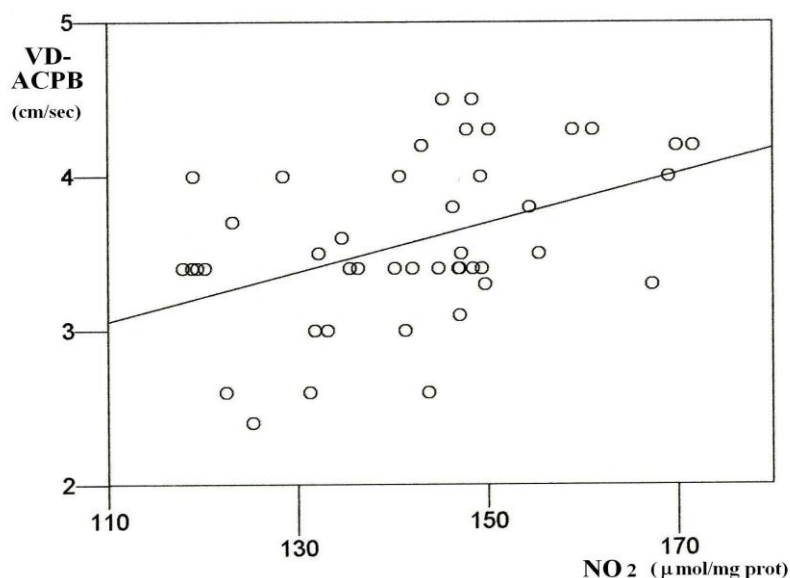


Figura 25 Correlazione tra i livelli plasmatici dei nitrati (NO_2) ed i valori della velocità diastolica nelle arterie ciliari posteriori brevi (VD-ACPB) nei GTN ($r = 0.435$, $p = 0.003$).

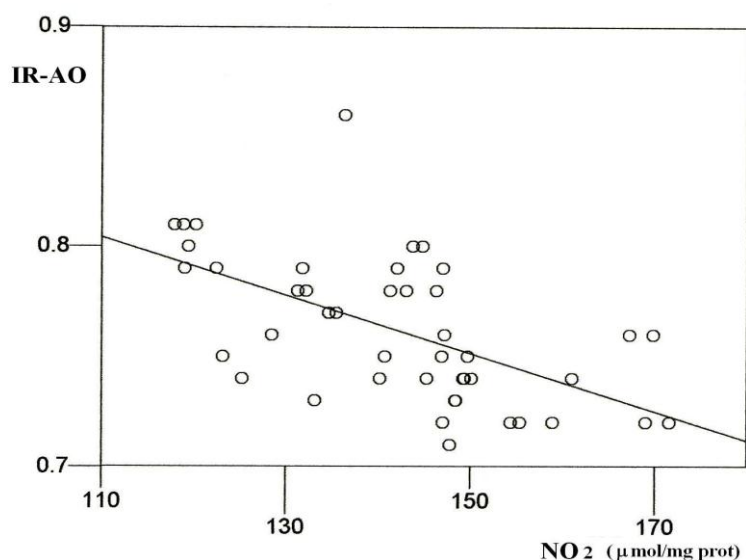


Figura 26 Correlazione tra i livelli plasmatici dei nitrati (NO_2) ed i valori dell'indice di resistenza nell'arteria oftalmica (IR-AO) nei GTN ($r = -0.573$, $p < 0.001$).

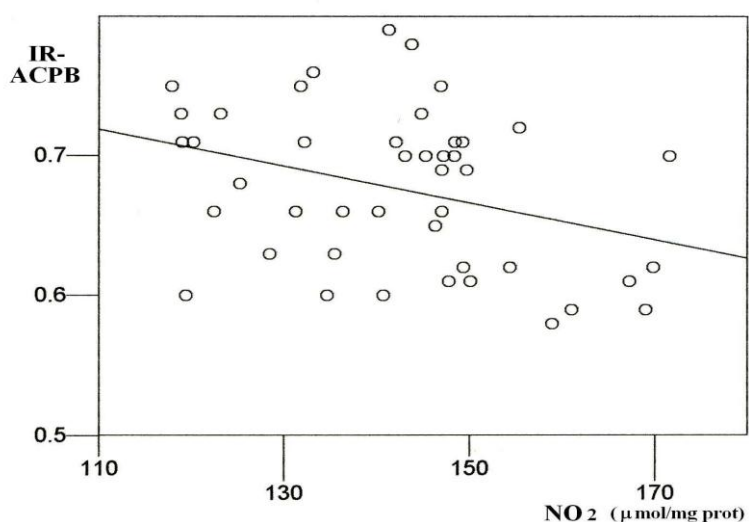


Figura 27 Correlazione tra i livelli plasmatici dei nitrati (NO_2) ed i valori dell'indice di resistenza nelle arterie ciliari posteriori brevi (VD-ACPB) nei GTN ($r = -0.333$, $p = 0.026$).

Nessuna associazione significativa tra i livelli plasmatici di ET-1, di cGMP, e di NO_2 con i parametri emodinamici retrobulbari è risultata essere presente nei controlli ($p > 0.05$ per tutte le correlazioni).

Nelle tabelle 14, 15, e 16 sono riportati i coefficienti di correlazione (r) ed il livello di significatività statistica (p) per tutte le correlazioni analizzate nei GTN e nei controlli.

	GTN	Controlli
ET-1 – VS-AO	$r = 0.024, p = 0.876$	$r = 0.012, p = 0.936$
ET-1 – VD-AO	$r = -0.235, p = 0.123$	$r = 0.042, p = 0.792$
ET-1 – IR-AO	$r = 0.395, p = 0.007$	$r = 0.142, p = 0.379$
ET-1 – VS-ACPB	$r = 0.045, p = 0.769$	$r = -0.039, p = 0.809$
ET-1 – VD-ACPB	$r = -0.192, p = 0.211$	$r = -0.046, p = 0.774$
ET-1 – IR-ACPB	$r = 0.201, p = 0.189$	$r = 0.033, p = 0.839$

Tabella 14 Correlazione tra i livelli plasmatici di endotelina-1 (ET-1) ed i parametri emodinamici retrobulbari nei due gruppi esaminati.

	GTN	Controlli
cGMP – VS-AO	$r = -0.269, p = 0.077$	$r = 0.058, p = 0.720$
cGMP – VD-AO	$r = 0.182, p = 0.236$	$r = -0.145, p = 0.368$
cGMP – IR-AO	$r = -0.688, p < 0.001$	$r = 0.266, p = 0.096$
cGMP – VS-ACPB	$r = -0.033, p = 0.828$	$r = 0.109, p = 0.502$
cGMP – VD-ACPB	$r = 0.347, p = 0.020$	$r = 0.133, p = 0.411$
cGMP – IR-ACPB	$r = -0.305, p = 0.043$	$r = -0.005, p = 0.971$

Tabella 15 Correlazione tra i livelli plasmatici di GMP ciclico (cGMP) ed i parametri emodinamici retrobulbari nei due gruppi esaminati.

	GTN	Controlli
NO₂ – VS-AO	$r = -0.209, p = 0.172$	$r = 0.070, p = 0.667$
NO₂ – VD-AO	$r = 0.185, p = 0.227$	$r = -0.098, p = 0.546$
NO₂ – IR-AO	$r = -0.573, p < 0.001$	$r = 0.241, p = 0.134$
NO₂ – VS-ACPB	$r = 0.012, p = 0.936$	$r = -0.107, p = 0.508$
NO₂ – VD-ACPB	$r = 0.435, p = 0.003$	$r = 0.059, p = 0.715$
NO₂ – IR-ACPB	$r = -0.333, p = 0.026$	$r = -0.288, p = 0.070$

Tabella 16 Correlazione tra i livelli plasmatici dei nitrati (NO₂) ed i parametri emodinamici retrobulbari nei due gruppi esaminati.

Per completare l'analisi delle interrelazioni tra i fattori di rischio vascolari, sono state ricercate delle eventuali connessioni tra la pressione arteriosa e l'emodinamica retrobulbare e tra quest'ultima e le pressioni di perfusione oculare, con i seguenti risultati.

Correlazione tra pressione arteriosa e pressioni di perfusione oculare ed emodinamica retrobulbare

Bassi valori di pressione arteriosa diastolica sono presenti nei pazienti che mostrano valori piu' elevati dell'indice di resistenza nell'arteria oftalmica ($r = -0.342$, $p = 0.022$) (figura 28).

Nei pazienti affetti da GTN i valori della pressione di perfusione oculare media non risultano correlati con i parametri emodinamici retrobulbari, fatta eccezione per una correlazione positiva ai limiti della significatività con la velocità sistolica misurata nell'arteria oftalmica ($r = 0.296$, $p = 0.050$) (figura 29). I GTN con pressione di perfusione oculare diastolica piu' bassa hanno indici di resistenza dell'arteria oftalmica piu' elevati ($r = -0.327$, $p = 0.029$) (figura 30). Le altre correlazioni non esistono ad un livello inferiore a quello considerato di significatività statistica. Nei controlli non sono presenti associazioni significative tra i valori della pressione arteriosa e delle pressioni di perfusione oculare ed i parametri emodinamici retrobulbari ($p > 0.05$ per tutte le correlazioni).

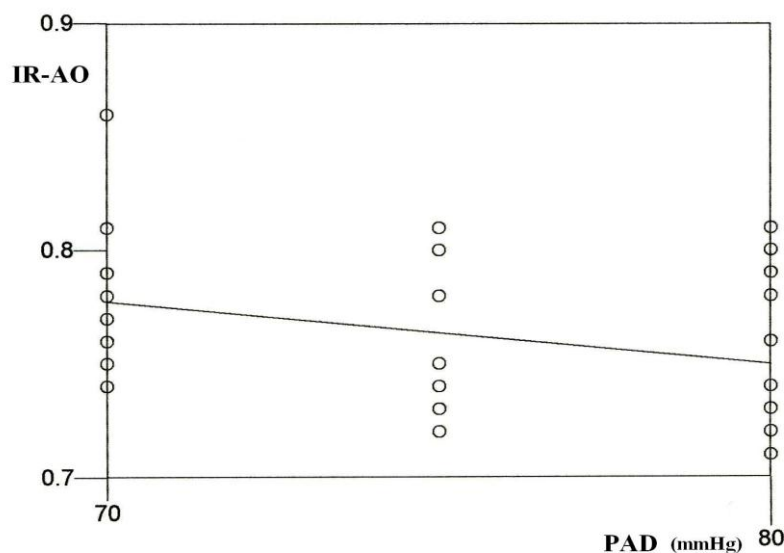


Figura 28 Correlazione tra i valori della pressione arteriosa diastolica (mmHg) ed i valori dell'indice di resistenza nell'arteria oftalmica (IR-AO) nei GTN ($r = -0.342$, $p = 0.022$).

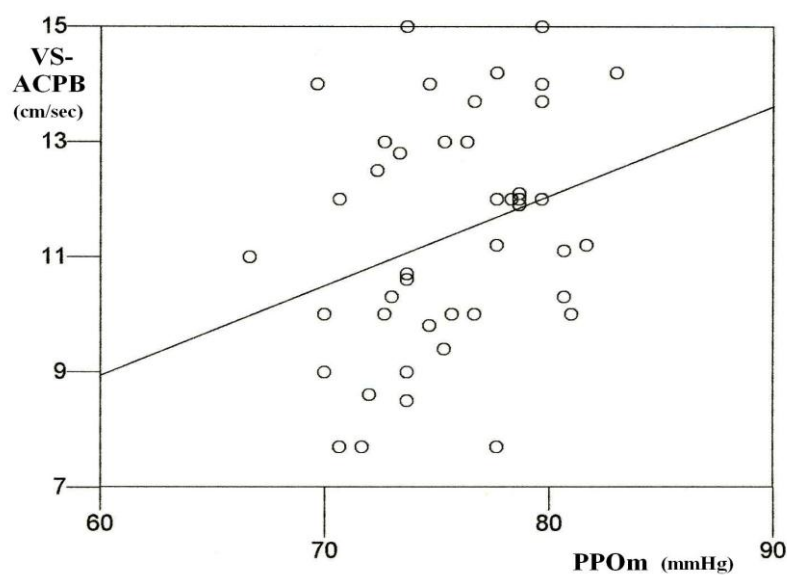


Figura 29 Correlazione tra i valori della pressione di perfusione oculare media (PPOm) e della velocità sistolica nelle arterie ciliari posteriori brevi (VS-ACPB) nei GTN ($r=0.296$, $p=0.050$).

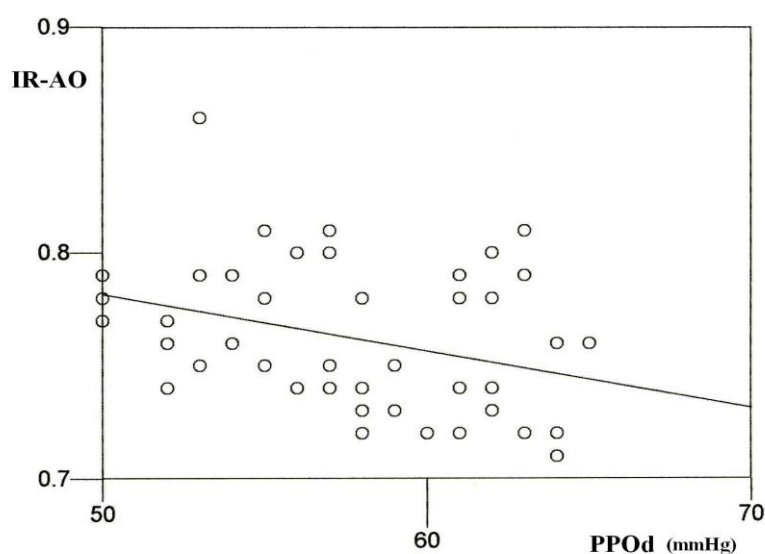


Figura 30 Correlazione tra i valori della pressione di perfusione oculare diastolica (PPOd) e dell'indice di resistenza nell'arteria oftalmica (IR-AO) nei GTN ($r=-0.327$, $p=0.029$).

Nelle tabelle 17, 18, e 19 vengono riportati i coefficienti di correlazione (r) ed i livelli di significatività statistica (p) per le suddette relazioni nei due gruppi di soggetti esaminati nel presente studio.

	GTN	Controlli
PAD – VS-AO	$r = -0.044, p = 0.775$	$r = -0.061, p = 0.705$
PAD – VD-AO	$r = 0.165, p = 0.281$	$r = -0.049, p = 0.759$
PAD – IR-AO	$r = -0.342, p = 0.022$	$r = -0.175, p = 0.278$
PAD – VS-ACPB	$r = 0.201, p = 0.190$	$r = -0.242, p = 0.132$
PAD – VD-ACPB	$r = 0.109, p = 0.479$	$r = -0.233, p = 0.146$
PAD – IR-ACPB	$r = 0.134, p = 0.383$	$r = -0.029, p = 0.858$

Tabella 17 Correlazione tra la pressione arteriosa diastolica (PAD) ed i parametri emodinamici retrobulbari nei due gruppi esaminati.

	GTN	Controlli
PPOm – VS-AO	$r = -0.075, p = 0.628$	$r = -0.016, p = 0.919$
PPOm – VD-AO	$r = 0.083, p = 0.589$	$r = -0.013, p = 0.934$
PPOm – IR-AO	$r = -0.283, p = 0.111$	$r = -0.120, p = 0.458$
PPOm – VS-ACPB	$r = 0.296, p = 0.050$	$r = -0.191, p = 0.237$
PPOm – VD-ACPB	$r = 0.242, p = 0.113$	$r = -0.259, p = 0.106$
PPOm – IR-ACPB	$r = 0.117, p = 0.449$	$r = 0.085, p = 0.601$

Tabella 18 Correlazione tra la pressione di perfusione oculare media (PPOm) ed i parametri emodinamici retrobulbari nei due gruppi esaminati.

	GTN	Controlli
PPOd – VS-AO	$r = -0.115, p = 0.456$	$r = -0.048, p = 0.767$
PPOd – VD-AO	$r = 0.075, p = 0.626$	$r = -0.024, p = 0.881$
PPOd – IR-AO	$r = -0.327, p = 0.029$	$r = -0.182, p = 0.259$
PPOd – VS-ACPB	$r = 0.212, p = 0.165$	$r = -0.224, p = 0.163$
PPOd – VD-ACPB	$r = 0.194, p = 0.204$	$r = -0.254, p = 0.113$
PPOd – IR-ACPB	$r = 0.047, p = 0.757$	$r = 0.041, p = 0.801$

Tabella 19 Correlazione tra la pressione di perfusione oculare diastolica (PPOd) ed i parametri emodinamici retrobulbari nei due gruppi esaminati.

CONSIDERAZIONI

Nel presente studio un gruppo di pazienti con glaucoma normotensionale ed uno di soggetti sani di controllo sono stati messi a confronto in relazione alla prevalenza di una serie di fattori di rischio vascolari sistemici ed oculari per i quali esistono evidenze scientifiche che ne attestano il ruolo patogenetico nell'insorgenza e nella progressione dell'otticopatìa glaucomatosa.

Sono state inoltre indagate le eventuali correlazioni tra i vari fattori nei due gruppi, al fine di ottenere informazioni utili per comprendere meglio la patogenesi del glaucoma a tensione normale, fino ad oggi non del tutto elucidata.

Dopo un'attenta revisione della letteratura possiamo affermare che il presente è il primo lavoro condotto su pazienti affetti da glaucoma normotensivo nel quale siano stati contemporaneamente studiati molti fattori di rischio vascolari sistemici e locali e ne siano state indagate le reciproche correlazioni.

I principali fattori di rischio vascolari per il glaucoma sono il vasospasmo sistemico, l'ipotensione arteriosa, e le alterazioni del flusso ematico oculare ^{47, 73, 75, 76, 77, 78, 155, 181, 182}. Secondo la teoria vascolare essi danneggiano il nervo ottico con un meccanismo di tipo ischemico. I primi studi sui fattori vascolari portarono alla definizione di tale teoria, inizialmente contrapposta alla classica teoria meccanica secondo la quale la causa dell'otticopatìa glaucomatosa è l'ipertensione oculare, che agisce con un meccanismo puramente compressivo. Le due teorie non sono mutuamente esclusive. I fattori vascolari ed il fattore meccanico contribuiscono infatti in misura variabile alla genesi ed alla progressione del danno anatomico-funzionale nelle diverse forme di glaucoma e nei singoli pazienti, in relazione ad una sensibilità individuale ³. Alla luce di queste conoscenze appare giustificato l'inserimento tra i fattori di rischio della presenza di una bassa pressione di perfusione oculare, parametro che prende in considerazione sia la pressione arteriosa sistemica che quella intraoculare.

Il glaucoma normotensivo è certamente la forma in cui i fattori di rischio vascolari rivestono la maggiore importanza. Appare pertanto opportuna una valutazione complessiva di tali fattori nei soggetti in cui viene diagnosticata tale patologia, al fine di operare una corretta gestione clinica.

Il coinvolgimento del vasospasmo nella patogenesi dell'otticopatìa glaucomatosa è stato discusso in alcune *review* ^{76, 77}. Si fa riferimento alla sindrome vasospastica primaria, il cui segno patognomonico è il vasospasmo acrale. Quest'ultimo è definito come uno squilibrio del tono vasale che causa "un'inappropriata vasocostrizione e/o un'insufficiente vasodilatazione a livello della microcircolazione"; il fenomeno si manifesta selettivamente nella circolazione cutanea in risposta a specifici stimoli che sono essenzialmente di natura termica ⁷². Gli indicatori più affidabili del vasospasmo sono la capillaroscopia positiva dopo test di provocazione termica e concentrazioni

plasmatiche elevate di endotelina-1^{77, 100, 102}. Altri segni clinici evidenti nei soggetti con diatesi vasospastica sono l'emicrania ed il fenomeno di Raynaud^{77, 102}.

Studi epidemiologici hanno riportato che la prevalenza di un quadro clinico di vasospasmo sistemico è significativamente maggiore nei soggetti con glaucoma a tensione normale^{47, 73, 101, 243}. I risultati del Collaborative Normal-Tension Glaucoma Study appaiono particolarmente indicativi, poiché stabiliscono che l'emicrania aumenta di 2.58 volte il rischio di sviluppare la malattia⁵⁸.

A conferma di quanto detto finora, i pazienti esaminati nel presente studio mostrano una prevalenza significativamente più elevata che nei controlli sani di emicrania, fenomeno di Raynaud, ed alterazioni capillaroscopiche del letto ungueale indicative di vasospasmo acrale. La presenza di livelli plasmatici di ET-1 significativamente superiori nei GTN rispetto ai controlli è in accordo con i risultati di alcuni lavori sull'argomento^{32, 47, 234, 281, 309, 311}. La buona correlazione esistente nella nostra casistica tra valori elevati di ET-1 e positività della capillaroscopia alimenta l'evidenza che la SVP sia una condizione clinica associata al GTN.

Il ruolo dell'ET-1 nel glaucoma non è limitato agli effetti vascolari; è stato infatti dimostrato, anche se quasi esclusivamente in modelli animali, che questa molecola contribuisce alla regolazione della pressione intraoculare e, se presente in eccesso, promuove l'apoptosi delle cellule ganglionari retiniche e l'astroglia^{65, 139, 180, 213, 232, 284, 295, 311}. Gli effetti sulla PIO e sull'apoptosi non sono stati considerati nel nostro studio, che è stato condotto specificamente per valutare i fattori vascolari.

La valutazione del metabolismo dell'ET-1 non può prescindere da quella del metabolismo del nitrossido. Le interazioni tra i due agenti vasoattivi endoteliali sono infatti molteplici, come documentato nella parte introduttiva, e di particolare rilevanza in relazione ai loro effetti sui vasi sanguigni.

Il riscontro nel nostro gruppo di GTN di livelli ematici dei due *markers* del nitrossido, cGMP e NO₂, significativamente inferiori che nei controlli è in accordo con i dati della letteratura^{89, 92}. Analogamente a quanto detto per l'ET-1, solo gli effetti vascolari del NO, non quelli sulla PIO e sull'apoptosi, sono stati oggetto della presente ricerca.

Il nostro studio conferma l'elevata prevalenza della SVP nel glaucoma a tensione normale precedentemente riscontrata da alcuni autori^{47, 73, 101, 243}.

I meccanismi patogenetici per i quali la SVP può essere un fattore di rischio per il glaucoma, ed in particolar modo per il GTN, non sono stati ancora del tutto chiariti. Per comprendere l'effettivo ruolo della SVP ne devono essere indagati gli effetti a livello della circolazione della testa del nervo ottico.

Una spiegazione plausibile è stata data da Flammer, secondo il quale la SVP rende l'occhio più sensibile alla pressione intraoculare, anche se questa rimane entro i limiti di norma, ed alla bassa pressione arteriosa diastolica ⁷⁶.

Le alterazioni della pressione arteriosa sistemica rientrano tra i fattori di rischio del glaucoma; una metanalisi dei lavori scientifici al riguardo evidenzia che l'ipotensione arteriosa è più frequentemente associata dell'ipertensione al glaucoma, soprattutto al GTN, nel quale può avere rilevanza patogenetica ^{56, 110, 155, 181, 182}. Bassi valori di pressione arteriosa, in particolare diastolica e notturna, possono infatti causare una notevole riduzione della perfusione della testa del nervo ottico in grado di danneggiare le CGR anche in presenza di valori di PIO statisticamente entro i limiti normali.

Il nostro studio si pone in linea con le attuali evidenze scientifiche. I pazienti con GTN da noi esaminati presentano infatti valori di pressione arteriosa sisto-diastolica sensibilmente più bassi della norma e significativamente inferiori rispetto ai controlli, peraltro tutti normotesi.

Nel presente studio sono state inoltre calcolate le pressioni di perfusione oculare media e diastolica, che informano in modo più preciso sulla perfusione della TNO e che sono indicate dalla letteratura come due importanti fattori di rischio per la genesi e la progressione del glaucoma ^{182, 186, 287}. I pazienti affetti da GTN da noi esaminati presentano valori di pressione di perfusione oculare sia media che diastolica significativamente più bassi, in confronto con i soggetti sani. Essendo la PIO non significativamente dissimile tra i due gruppi, la differenza in termini di pressioni di perfusione è legata ai minori valori di pressione arteriosa sistemica, in particolare diastolica, riscontrati nei GTN rispetto ai controlli.

La PPOd è probabilmente il parametro più indicativo, tra i valori delle pressioni arteriosa sistemica e di perfusione oculare. Importanti studi epidemiologici quali il Barbados Eye Study e l'Egna-Neumarkt Study hanno concluso che bassi valori di PPOd aumentano il rischio di sviluppare il glaucoma, sia iperbarico che normotensivo ^{23, 182, 287}. Una PPOd ridotta risulta peraltro associata ad una peggiore prognosi funzionale a lungo termine ²⁸⁶. Esistono solo poche segnalazioni che confutano la rilevanza patogenetica della riduzione delle pressioni di perfusione oculare ^{175, 237}.

Il nostro studio si pone dunque in linea con l'orientamento scientifico attualmente prevalente e fornisce risultati molto significativi in termini statistici a dimostrazione dell'associazione tra bassi valori di pressione di perfusione oculare ed insorgenza di GTN.

Bassi valori di pressione arteriosa e soprattutto di pressione di perfusione oculare possono influenzare negativamente la circolazione oculare, riducendo quindi anche l'apporto ematico alla testa del nervo ottico. Le informazioni fornite da questi parametri sono tuttavia indirette, mentre dati più specifici e pertanto clinicamente più rilevanti derivano dallo studio del flusso ematico oculare.

L'ecocolorDoppler è lo strumento più utile, in virtù della sua diretta capacità informativa sulle caratteristiche del flusso ematico all'interno dei vasi che irrorano la testa del nervo ottico. I parametri misurati mediante ECD sono altamente indicativi della perfusione distrettuale. Il dato più rilevante dal punto di vista clinico è la combinazione di una bassa velocità diastolica e di un elevato indice di resistenza a livello dell'arteria oftalmica e soprattutto delle arterie ciliari posteriori brevi, espressione di un'effettiva diminuzione dell'apporto ematico alla TNO³⁰³.

Lo studio mediante ECD condotto nell'ambito del presente lavoro mostra velocità di flusso sistolica e diastolica ridotte ed indice di resistenza aumentato nelle arterie oftalmica, ciliari posteriori brevi, e centrale retinica negli occhi con GTN rispetto ai controlli; la differenza è presente con un elevato livello di significatività statistica per i vari parametri nei tre vasi esaminati.

I nostri risultati confermano i dati della letteratura, a sostegno del verosimile ruolo patogenetico svolto dai deficit di perfusione della TNO. E' stato infatti dimostrato che nel glaucoma a tensione normale i parametri emodinamici retrobulbari sono alterati, rispetto ad altre tipologie di glaucoma ed ai controlli sani^{28, 87, 88, 145, 170}. Una peggiore emodinamica retrobulbare si configura peraltro come fattore di rischio indipendente per la gravità e la progressione dei danni funzionali^{91, 170, 200, 318}.

Dalla valutazione della prevalenza dei fattori di rischio vascolari effettuata nel presente studio emerge che il vasospasmo sistemico, l'ipotensione arteriosa, bassi valori di pressione di perfusione oculare, ed alterazioni emodinamiche retrobulbari sono dati clinici più frequenti nei soggetti con GTN che nei controlli.

Al fine di indagare il ruolo di questi fattori nella patogenesi del GTN, sono state analizzate le relazioni tra gli indicatori della sindrome vasospastica primaria, ovvero le alterazioni capillaroscopiche ed i livelli plasmatici di ET-1, ed i parametri circolatori che influiscono sul flusso ematico oculare.

Nei pazienti glaucomatosi è presente una seppur debole correlazione inversa tra i livelli di ET-1 ed i valori di PAD e di PPOd. I reperti capillaroscopici non risultano invece correlati ai dati pressori sistemici e di perfusione oculare.

Questi risultati del nostro studio appaiono parzialmente in contrasto con le osservazioni della presenza di ipotensione sistemica nei soggetti con SVP, tuttavia il dato può essere in relazione alla relativamente bassa numerosità del nostro campione¹⁰². Nondimeno, la presenza da noi riscontrata di ipotensione arteriosa diastolica e di bassi valori di PPOd nei pazienti con livelli basali più elevati di ET-1 può far presupporre una valenza patogenetica di quest'associazione clinica nel GTN.

In un lavoro sperimentale Gass et al hanno dimostrato che l'infusione intraarteriosa di ET-1 provoca una vasocostrizione cutanea maggiore nei pazienti glaucomatosi con ipotensione arteriosa ed hanno

avanzato l'ipotesi che elevati livelli di ET-1 possano essere responsabili, in soggetti ipotesi, di una vasocostrizione anche a livello oculare, determinando una riduzione dell'apporto ematico alla TNO⁹⁸.

Tra i pazienti da noi esaminati, quelli nei quali le concentrazioni di ET-1 sono maggiori mostrano anche indici di resistenza più alti nell'arteria oftalmica. I valori della PAD e della PPOd risultano invece negativamente correlati con i valori dell'indice di resistenza nell'arteria oftalmica. Analoghe correlazioni non si repertano nel gruppo dei controlli.

Per quanto detto finora, il presente studio evidenzia nei pazienti con GTN un'associazione significativa tra alte concentrazioni plasmatiche di ET-1, bassi valori di pressione arteriosa diastolica, ed elevati valori dell'indice di resistenza nell'arteria oftalmica; tale associazione non è presente nei controlli.

E' stato ipotizzato che in soggetti affetti da GTN il vasospasmo acrale si associ a modificazioni circolatorie definibili come vasospasmo oculare. Il concetto di vasospasmo oculare è stato introdotto per descrivere la presenza di un'alterata vasoregolazione nel distretto oculare. L'argomento è stato trattato soprattutto in relazione alla patologia glaucomatosa^{76, 77, 96, 105, 126, 255}. I meccanismi fisiopatologici attraverso i quali si può manifestare il vasospasmo oculare non sono stati ancora chiariti. Inoltre, il motivo dell'associazione tra SVP e vasospasmo oculare non è attualmente definito con certezza.

L'esistenza di deficit della regolazione vascolare interpretabili come vasospasmo oculare è supportata dai risultati di alcune ricerche cliniche effettuate con varie tecniche di studio del flusso ematico oculare. E' stato infatti dimostrato mediante POBF e HRF che variazioni posturali e stimoli termici possono rivelare un'alterata risposta autoregolatoria a livello dell'arteria centrale della retina^{67, 86, 106, 148}. Harris et al hanno evidenziato in un gruppo di GTN la mancata riduzione dell'IR-ACR nel passaggio dalla posizione eretta alla supina, che avviene invece fisiologicamente nei soggetti normali¹²⁸. Gherghel et al hanno descritto l'assenza nell'arteria centrale retinica della normale risposta emodinamica (aumento della VD, diminuzione del IR) in grado di compensare la riduzione del flusso ematico oculare causata da un'eccessiva ipotensione notturna in soggetti glaucomatosi¹⁰⁵. Sorprendentemente, nessuno di questi studi ha dimostrato segni di disregolazione vascolare a livello del circolo coroideale, più direttamente influenzato dal sistema nervoso autonomo rispetto a quello retinico.

Bassi livelli di PPOd sono risultati associati ad alterazioni della regolazione del flusso ematico oculare, anche se studi mirati in pazienti con GTN non sono stati finora pubblicati^{96, 104, 105, 126, 255}.

La vasocostrizione osservata nei vasi retrobulbari in presenza di una ridotta perfusione oculare

configura un quadro clinico che può essere definito, per analogia con i fenomeni riscontrati nella circolazione periferica, cutanea, come vasospasmo oculare.

In riferimento alle possibili relazioni tra vasospasmo sistemico ed oculare Emre et al hanno riscontrato valori ridotti di flusso ematico oculare misurati con flussimetria laser Doppler e ECD in soggetti affetti da glaucoma, sia iperbarico che normotensivo, con risposta vasospastica alla capillaroscopia del letto ungueale. I livelli di ET-1 non mostravano invece influenza sui parametri emodinamici ⁶³. L'osservazione sembra supportare la presunta associazione nel glaucoma del vasospasmo sistemico con alterazioni del flusso ematico oculare.

L'attendibilità di una possibile associazione tra vasospasmo acrale ed oculare è suffragata dalla presenza di analogie morfofunzionali tra la microcircolazione della TNO e quella cutanea. I vasi di entrambi i distretti sono molto sensibili all'azione delle sostanze circolanti vasoattive, nello specifico l'ET-1 e il NO ^{121, 124}. Sono state peraltro dimostrate correlazioni tra il flusso ematico valutato a livello delle dita e della TNO ^{22, 95, 108}.

Pochi studi hanno indagato i rapporti esistenti tra emodinamica retrobulbare ed ET-1 e NO nel glaucoma a tensione normale. Cellini et al hanno riscontrato nei GTN valori di velocità sistolica inferiori e di indice di resistenza superiori ai controlli ed hanno attribuito questi dati alla presenza di livelli plasmatici di ET-1 più elevati, pur senza indagare una specifica correlazione ³². Per quanto concerne il NO, il nostro gruppo ha evidenziato una correlazione negativa tra i livelli plasmatici dei metaboliti del NO ed i valori dell'indice di resistenza nell'arteria oftalmica ⁸⁹.

I risultati del nostro studio avvalorano il concetto secondo cui nel glaucoma un'alterata regolazione a livello dei vasi retrobulbari si manifesta in un quadro di diatesi vasospastica sistemica ed aumenta la sensibilità delle fibre del nervo ottico alla ridotta perfusione ematica esistente in presenza di bassi valori di pressione arteriosa e pressione di perfusione oculare, soprattutto diastoliche ⁷⁶.

Studi condotti mediante ECD hanno evidenziato una riduzione delle velocità di flusso ed un incremento dell'indice di resistenza nei vasi retrobulbari in presenza di bassi valori di pressione di perfusione oculare nel glaucoma iperbarico e pseudoesfoliativo ^{96, 104, 105, 126, 255}. Questi fenomeni sono indicativi di una disregolazione a livello della microcircolazione della TNO ed appaiono analoghi all'esagerata risposta costringente indotta nei vasi cutanei dell'avambraccio da alte concentrazioni di ET-1 in presenza di ipotensione arteriosa sistemica ⁹⁸. Il presente studio ha evidenziato per la prima volta questo deficit di vasoregolazione oculare in soggetti con glaucoma normotensivo.

Bassi valori di PPO, che sono spesso associati a bassi valori di pressione arteriosa, ed in particolare ad ipotensione arteriosa diastolica, possono essere un *trigger* per la vasocostrizione delle arterie

retrobulbari. La riduzione della PAD e della PPOd avrebbe nei confronti del vasospasmo oculare un ruolo analogo a quello che il freddo ha nei confronti del vasospasmo acrale.

Studi sperimentali condotti nell'uomo hanno dimostrato che la genesi del vasospasmo acrale è verosimilmente legata ad uno squilibrio tra ET-1 e NO ^{98, 138}. Henry et al spiegano la minore risposta vasodilatatoria cutanea all'infusione di ET-1 con la presenza di alterazioni del metabolismo del NO che impediscano l'incremento della sintesi del NO in risposta a livelli elevati di ET-1 ¹³⁸. Gass et al suppongono che la minore produzione di NO a livello endoteliale sia la causa di un'aumentata sensibilità del microcircolo cutaneo all'ET-1 ⁹⁸. E' quindi opportuno indagare anche l'influenza del NO sui parametri circolatori influenti sulla perfusione della testa del nervo ottico.

Per quanto attiene al presente studio, sia nei GTN che nei controlli le concentrazioni plasmatiche dei *markers* del NO non mostrano variazioni significative in relazione ai valori della pressione arteriosa sistemica e delle pressioni di perfusione oculare, tuttavia nei GTN è evidente una tendenza per cui livelli più elevati di cGMP e di NO₂ si associano a valori superiori di pressione di perfusione oculare diastolica.

Le concentrazioni plasmatiche del nitrossido non sono un indicatore del vasospasmo, ma è dato ormai certo che la disregolazione endoteliale comporta uno squilibrio tra ET-1 e NO, con incremento dei livelli di ET-1 e riduzione dei livelli di NO, presumibilmente per una ridotta sintesi da parte della eNOS ^{75, 137, 215, 291}.

I livelli plasmatici di NO hanno una verosimile influenza sull'emodinamica oculare. E' stato infatti dimostrato che terapie sistemiche con nitroderivati possono aumentare l'apporto ematico alla TNO ^{115, 116}. Al contrario, l'iniezione intravenosa di inibitori della NOS causa una riduzione del flusso ematico della TNO ¹⁹⁵.

In questa sede sono state studiate le relazioni tra NO ed emodinamica retrobulbare. I valori della velocità diastolica nelle arterie ciliari posteriori brevi sono più bassi nei pazienti con livelli inferiori di GMP ciclico e di nitrati; negli stessi pazienti l'indice di resistenza nell'arteria oftalmica e nelle arterie ciliari posteriori brevi risulta invece significativamente più elevato. Questi risultati supportano l'ipotesi che nei pazienti con GTN affetti da SVP il vasospasmo possa manifestarsi anche a livello della circolazione della TNO ed essere quindi patogeneticamente rilevante nell'otticopatia glaucomatosa.

La presenza di una bassa pressione arteriosa diastolica e soprattutto di una bassa PPOd può determinare una riduzione della perfusione della TNO, che in condizioni normali viene ristabilita da un'aumentata sintesi di NO; la vasodilatazione incrementa infatti il flusso ematico.

Nel nostro studio i GTN in cui la PAD e la PPOd sono basse non mostrano livelli plasmatici più elevati di NO, segno di un'inadeguata capacità regolatoria del tono vasale. In questi pazienti

risultano invece aumentati i livelli di ET-1, la cui azione vasocostrittiva prevale quindi a livello dei vasi retrobulbari. Dal presente studio si evince che uno squilibrio tra le due sostanze vasoattive può influenzare in maniera negativa l'emodinamica della TNO, presumibilmente attraverso una risposta costrittiva dei vasi retrobulbari a stati circolatori causa di ridotta perfusione della TNO, quali bassi valori di PAD e di PPOd.

CONCLUSIONI

Dal presente studio, condotto per valutare la prevalenza di alcuni fattori di rischio vascolari in un gruppo di pazienti con glaucoma normotensivo in confronto con un gruppo di controlli sani e per determinare eventuali interrelazioni tra le alterazioni vascolari sistemiche ed oculari riscontrate nei suddetti pazienti, si possono trarre le seguenti conclusioni.

Alcuni fattori di rischio vascolari quali il vasospasmo, l'ipotensione arteriosa, e le alterazioni dell'emodinamica retrobulbare hanno un'elevata prevalenza in pazienti affetti da glaucoma a tensione normale. Il confronto con un gruppo di controlli sani evidenzia che la prevalenza di tali fattori è significativamente maggiore nei soggetti glaucomatosi rispetto ai soggetti sani.

Per quanto concerne le interrelazioni tra le alterazioni vascolari sistemiche ed oculari, i nostri risultati suggeriscono che nei pazienti affetti da glaucoma normotensivo il vasospasmo possa manifestarsi non solo a livello sistemico, ma anche a livello oculare, causando una costrizione delle arterie responsabili della perfusione della testa del nervo ottico.

Inoltre, le elevate concentrazioni plasmatiche di endotelina-1 sono indicative di una diatesi vasospastica sistemica sulla quale l'ipotensione arteriosa e bassi valori di pressione di perfusione oculare possono verosimilmente agire come *triggers* provasospastici e determinare una condizione di vasospasmo oculare che comporta una diminuzione dell'apporto ematico alla testa del nervo ottico che non viene corretta da un'aumentata sintesi di nitrossido. La disfunzione endoteliale che provoca uno squilibrio tra ET-1 e NO, sostanze deputate al mantenimento della capacità regolatoria del tono vasale, sembra dunque essere il substrato comune al vasospasmo sistemico ed oculare sul quale possono agire fattori scatenanti.

Una valutazione complessiva dei fattori vascolari è sicuramente opportuna nell'iter diagnostico di tutti i soggetti con glaucoma, in particolare di quelli affetti dalla forma a tensione normale.

E' inoltre auspicabile che la definizione delle correlazioni tra i vari fattori di rischio vascolari possa aprire la strada a terapie *ad hoc* per migliorare la gestione clinica di una patologia dall'eziopatogenesi complessa, multifattoriale, qual è il glaucoma normotensivo.

BIBLIOGRAFIA

1. Abedin S, Simmons RJ, Grant WM. Progressive low-tension glaucoma: treatment to stop glaucomatous cupping and field loss when these progress despite normal intraocular pressure. *Ophthalmology* 1982;89:1-6
2. Akaike T, Yoshida M, Miyamoto Y, et al. Antagonistic action of imidazolineoxyl N-oxides against endothelium-derived relaxing factor/NO through a radical reaction. *Biochemistry* 1993;32:827-32
3. American Academy of Ophthalmology. Preferred practice pattern: primary open-angle glaucoma. American Academy of Ophthalmology; San Francisco, 1996
4. Araie M, Sekine M, Suzuki Y, et al. Factors contributing to the progression of visual field damage in eyes with normal-tension glaucoma. Factors contributing to the progression of visual field damage in eyes with normal-tension glaucoma. *Ophthalmology* 1994;101:1440-4
5. Araie M. Pattern of visual field defects in normal-tension and high-tension glaucoma. *Curr Opin Ophthalmol* 1995;6:36-45
6. Armaly MF. On the Distribution of Applanation Pressure. I. Statistical Features and the Effect of Age, Sex, and Family History of Glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1965;73:11-8
7. Asrani S, Zeimer R, Wilensky J, et al. Large diurnal fluctuations in intraocular pressure are an independent risk factor in patients with glaucoma. *J Glaucoma* 2000;9:134-42
8. Aung T, Ocaka L, Ebenezer ND, et al. Investigating the association between OPA1 polymorphisms and glaucoma: comparison between normal tension and high tension primary open angle glaucoma. *Hum Genet* 2002;110:513-4
9. Aung T, Okada K, Poinoosawmy D, et al. The phenotype of normal tension glaucoma patients with and without OPA1 polymorphisms. *Br J Ophthalmol* 2003;87:149-52
10. Aung T, Rezaie T, Okada K, et al. Clinical features and course of patients with glaucoma with the E50K mutation in the optineurine gene. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:2816-22
11. Ayajiki K, Tanaka T, Okamura T, et al. Evidence for nitroxidergic innervation in monkey ophthalmic arteries in vivo and in vitro. *Am J Physiol* 2000;279:H2006-H2012
12. Bayer AU, Ferrari F, Erb C. High occurrence rate of glaucoma among patients with Alzheimer's disease. *Eur Neurol* 2002; 47:165-8
13. Bednarczyk EM, Remler B, Weikart C, et al. Global cerebral blood flow, blood volume, and oxygen metabolism in patients with migraine headache. *Neurology* 1998;50:1736-40
14. Belch JJ, Ho M. Pharmacotherapy of Raynaud's phenomenon. *Drugs* 1996;52:682-95

15. Bengtsson B, Heijl A. Diurnal IOP fluctuations: not an independent risk factor for glaucomatous visual field loss in high-risk ocular hypertension. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2005;243:513-8
16. Benz D, Cadet P, Mantione K, et al. Tonal nitric oxide and health-a free radical and a scavenger of free radicals. *Med Sci Monit* 2002;8:RA1-RA4
17. Bergstrand IC, Heijl A, Harris A. Dorzolamide and ocular blood flow in previously untreated glaucoma patients: a controlled double-masked study. *Acta Ophthalmol Scand* 2002;80:176-82
18. Bernard PA, Bennett JL. Vasospastic amaurosis fugax. *Arch Ophthalmol* 1999;117:1568-9
19. Binder AF, Paterson G, Miller SJ. Biochemical abnormalities associated with ocular hypertension and low tension glaucoma. *Trans Ophthalmol Soc UK* 1974; 94:518-24
20. Block JA, Sequeira W. Raynaud's phenomenon. *Lancet* 2001;357:2042-8
21. Boehm AG, Breidenbach KA, Pillunat LE, et al. Visual function and perfusion of the optic nerve head after application of centrally acting calcium-channel blockers. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2003;241:34-8
22. Bohdanecka Z, Orgül S, Meyer A, et al. Relationship between blood flow velocities in retrobulbar vessels and laser Doppler Flowmetry at the optic disk in glaucoma patients. *Ophthalmologica* 1999;213-145-9
23. Bonomi L, Marchini G, Marraffa M, et al. Vascular risk factors for primary open angle glaucoma: the Egna-Neumarkt Study. *Ophthalmology* 2000;107:1287-93
24. Bormann J. Memantine is a potent blocker of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor channels. *Eur J Pharm* 1989;166:591-2
25. Bredt DS, Snyder SH. Isolation of nitric oxide synthetase, a calmodulin-requiring enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:682-5
26. Broadway DC, Drance SM. Glaucoma and vasospasm. *Br J Ophthalmol* 1998;82:862-70
27. Buckley C, Hadoke PW, Henry E, et al. Systemic vascular endothelial cell dysfunction in normal pressure glaucoma. *Br J Ophthalmol* 2002;86:277-32
28. Butt Z, McKillop G, O'Brien C, et al. Measurement of ocular blood flow velocity using colour Doppler imaging in low tension glaucoma. *Eye* 1995;9:29-33
29. Caprioli J, Spaeth GL. Comparison of visual field defects in the low-tension glaucomas with those in the high-tension glaucomas. *Am J Ophthalmol* 1984;97:730-7
30. Carel RS, Korczyn AD, Rock M, et al. Association between ocular pressure and certain health parameters. *Ophthalmology* 1984;91:311-4
31. Cartwright MJ, Grajewski AL, Friedberg ML, et al. immune-related disease and normal-tension glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1992;110:500-2

32. Cellini M, Possati GL, Profazio V, et al. Color Doppler imaging and plasma levels of endothelin-1 in low-tension glaucoma. *Acta Ophthalmol Scand Suppl* 1997;11-13
33. Chang CJ, Chiang C-H, Chow JC-K, et al. Aqueous humor nitric oxide levels differ in patients with different types of glaucoma. *J Ocul Pharmacol Ther* 2000;5:399-406
34. Choi J, Kim KH, Jeong J, et al. Circadian fluctuation of mean ocular perfusion pressure is a consistent risk factor for normal-tension glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:104-11
35. Chuman H, Chuman T, Nao-i N, et al. The effect of L-arginine on intraocular pressure in the human eye. *Curr Eye Res* 2000;20:511-6
36. Chung HS, Harris A, Evans DW, et al. Vascular aspects in the pathophysiology of glaucomatous optic neuropathy. *Surv Ophthalmol* 1999;43:S53-S50
37. Ciancaglini M, Carpineto P, Costagliola C, et al. Perfusion of the optic nerve head and visual field damage in glaucomatous patients. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2001;239:549-55
38. Cockerham KP, Pal C, Jani B, et al. The prevalence and implications of ocular hypertension and glaucoma in thyroid-associated orbitopathy. *Ophthalmology* 1997;104:914-7
39. Coleiro B, Marshall SE, Denton CP, et al. Treatment of Raynaud's phenomenon with the selective serotonin reuptake inhibitor fluoxetine. *Rheumatology* 2001;40:1038-43
40. Congdon NG, Broman AT, Bandeen-Roche K, et al. Central corneal thickness and corneal hysteresis associated with glaucoma damage. *Am J Ophthalmol* 2006;141:868-75
41. Copt RP, Thomas R, Mermoud A. Corneal thickness in ocular hypertension, primary open-angle glaucoma, and normal tension glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1999;117:14-6
42. Corder R, Carrier M, Khan M, et al. Cytokine regulation of endothelin-1 secretion from porcine aortic endothelial cells. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995;26:S56-S58
43. Crichton A, Drance SM, Douglas GR, et al. Unequal intraocular pressure and its relation to asymmetric visual field defects in low-tension glaucoma. *Ophthalmology* 1989;96:1312-4
44. Crisholm IA, Stead S. Plasma lipid patterns in patients with suspected glaucoma. *Can J Ophthalmol* 1988; 23:164-7
45. Cursiefen C, Wisse M, Cursiefen S, et al. Migraine and tension headache in high-pressure and normal-pressure glaucoma. *Am J Ophthalmol* 2000;129:102-4
46. Daugeliene L, Yamamoto T, Kitazawa Y. Effect of trabeculectomy on visual field in progressive normal-tension glaucoma. *Jpn J Ophthalmol* 1998;42:286-92
47. Delaney Y, Walshe TE, O'Brien C. Vasospasm in glaucoma: clinical and laboratory aspects. *Optom Vis Sci* 2006;83:406-14

48. Demailly P, Lehrer M, Kretz G. Argon laser trabeculoretraction in chronic open-angle glaucoma with normal pressure. A prospective study on the tonometric and perimetric effect. *J Fr Ophthalmol* 1989;12:183-9
49. Detorakis ET, Achtopoulos AK, Drakonaki EE, et al. Hemodynamic evaluation of the posterior ciliary circulation in exfoliation syndrome and exfoliation glaucoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2007;245:516-21
50. de Voogd S, Wolfs RC, Jansonius NM, et al. Atherosclerosis, C-reactive protein, and risk for open-angle glaucoma: the Rotterdam Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:3772-6
51. Dielemans I, Vingerling JR, Wolfs RC, et al. The prevalence of primary open-angle glaucoma in a population-based study in The Netherlands. The Rotterdam Study. *Ophthalmology* 1994;101:1851-5
52. Dimitrova G, Tamaki Y, Kato S. Retrobulbar circulation in patients with age-related maculopathy. *Eye* 2002;16:580-6
53. Dimitrova G, Kato S, Yamashita H, et al. Relation between retrobulbar circulation and progression of diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol* 2003;87:622-5
54. Doganay S, Evereklioglu C, Turkoz Y, et al. Decreased nitric oxide production in primary open-angle glaucoma. *Eur J Ophthalmol* 2002;12:44-8
55. Doughty MJ, Zaman ML. Human corneal thickness and its impact on intraocular pressure measures: a review and meta-analysis approach. *Surv Ophthalmol* 2000;44:367-408
56. Drance SM. Some factors in the production of low tension glaucoma. *Br J Ophthalmol* 1972;56:229-42
57. Drance SM. The concept of chronic open-angle glaucoma: a personal view. *Ophthalmologica* 1996;210:251-6
58. Drance S, Anderson DR, Schulzer M; Collaborative Normal-Tension Glaucoma Study Group. *Am J Ophthalmol* 2001;131:699-708
59. Druce HM, Kaliner MA, Ramos D, et al. Measurement of multiple microcirculatory parameters in human nasal mucosa using laser-Doppler velocimetry. *Microvasc Res* 1989;38:175-85
60. Dziadzio M, Denton CP, Smith R, et al. Losartan therapy for Raynaud's phenomenon and scleroderma. *Arthritis* 1999;42:2646-55
61. Ellis JD, Morris AD, MacEwen CJ. Should diabetic patients be screened for glaucoma? DARTS/MEMO Collaboration. *Br J Ophthalmol* 1999; 83:369-72
62. Emara BY, Tingey DP, Probst LE, et al. Central corneal thickness in low-tension glaucoma. *Can J Ophthalmol* 1999;34:319-24
63. Emre M, Orgul S, Gugleta K, et al. Ocular blood flow alteration in glaucoma is related to systemic vascular dysregulation. *Br J Ophthalmol* 2004;88:662-6

64. Emre M, Orgul S, Haufschild T, et al. Increased plasma endothelin-1 levels in patients with progressive open angle glaucoma. *Br J Ophthalmol* 2005;89:60-3
65. Erickson-Lamy K, Korbmacher C, Schuman JS, et al. Effect of endothelin on outflow facility and accommodation in the monkey eye in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991;32:492-5
66. European Glaucoma Society. Terminologia e linee-guida per il glaucoma. II Edizione. Editrice Dogma; Savona, 2003.
67. Evans DW, Harris A, Garrett M, et al. Glaucoma patients demonstrate faulty autoregulation of ocular blood flow during posture change. *Br J Ophthalmol* 1999;83:809-13
68. Evans DW, Hosking GL, Gherghel D, et al. Contrast sensitivity improves after brimonidine therapy in primary open angle glaucoma: a case for neuroprotection. *Br J Ophthalmol* 2003;87:1463-5
69. Flammer J. Do ocular vasospasms help cause low tension glaucoma? *Doc Ophthalmol Proc Ser* 1987;49:397-9
70. Flammer J. Therapeutical aspects of normal-tension glaucoma. *Curr Opin Ophthalmol* 1993;4:58-64
71. Flammer J. The vascular concept of glaucoma. *Surv Ophthalmol* 1994;38:S3-S6
72. Flammer J. To what extent are vascular factors involved in the pathogenesis of glaucoma? In: Ocular blood flow. New insights into the pathogenesis of ocular diseases. Kaiser HJ, Flammer J, and Hendrickson P eds; Karger, Basel, 1996, pp.12-39
73. Flammer J. Endothelin in the pathogenesis of glaucoma. In: Vascular risk factor and neuroprotection in glaucoma. Drance SM ed; Kugler Publications, Amsterdam, 1997, pp. 97-103
74. Flammer J. The concept of vascular dysregulation in glaucoma. In: Nitric oxide and endothelin in the pathogenesis of glaucoma. Haefliger IO, Flammer J eds; Lippincott-Raven, Philadelphia, 1998, pp. 14-21
75. Flammer J, Orgul S. Optic nerve blood-flow abnormalities in glaucoma. *Prog Retin Eye Res* 1998;17:267-89
76. Flammer J, Haefliger IO, Orgül S, et al. Vascular dysregulation: a principal risk factor for glaucomatous damage. *J Glaucoma* 1999;8:212-9
77. Flammer J, Pache M, Resink T. Vasospasm, its role in the pathogenesis of diseases with particular reference to the eye. *Prog Retin Eye Res* 2001;20:319-49
78. Flammer J, Orgul S, Costa VP, et al. The impact of ocular blood flow in glaucoma. *Prog Retin Eye Res* 2002;21:359-93

79. Flavahan NA, Flavahan S, Mitra S, et al. The vasculopathy of Raynaud's phenomenon and scleroderma. *Rheum Dis Clin North Am* 2003;29:275-91
80. Flügel C, Tamm ER, Mayer B, et al. Species differences in choroidal vasodilative innervation: evidence for specific intrinsic nitrergic and VIP-positive neurons in the human eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994;35:592-9
81. Fontana L, Poinoosawmy D, Bunce CV, et al. Pulsatile ocular blood flow investigation in asymmetric normal tension glaucoma and normal subjects. *Br J Ophthalmol* 1998;82:731-6
82. Fontana L, Armas R, Garway-Heath DF, et al. Clinical factors influencing the visual prognosis of the fellow eyes of normal tension glaucoma patients with unilateral visual field loss. *Br J Ophthalmol* 1999;83:1002-5
83. Förstermann U, Pollock JS, Schmidt HH, et al. Calmodulin-dependent endothelium-derived relaxing factor/nitric oxide synthase activity is present in the particulate and cytosolic fractions of bovine aortic endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:1788-92
84. Frezzotti R, Renieri A, Frezzotti P. Adult-onset primary glaucoma and molecular genetics: a review. *Eur J Ophthalmol* 2004;14:220-5
85. Fuchsjäger-Mayrl G, Wally B, Georgopoulos M, et al. Ocular blood flow and systemic blood pressure in patients with primary open-angle glaucoma and ocular hypertension. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:834-9
86. Galambos P, Vafiadis J, Vilchez SE, et al. Compromised autoregulatory control of ocular hemodynamics in glaucoma patients after postural change. *Ophthalmology* 2006;113:1832-6
87. Galassi F, Sodi A, Rossi MG, et al. Ocular haemodynamics in some subgroups of normal pressure glaucoma. *Acta Ophthalmol Scand Suppl* 1997;35-6
88. Galassi F, Sodi A, Rossi MG, et al. Results of color doppler imaging in various types of glaucoma. In: Current Concepts on Ocular Blood Flow in Glaucoma. Pillunat LE, Harris A, Anderson DR, Greve EL eds; Kugler Publication, The Hague, The Netherlands, 1999, pp.199-227
89. Galassi F, Sodi A, Ucci F, et al. Ocular haemodynamics and nitric oxide in normal pressure glaucoma. *Acta Ophthalmol Scand Suppl* 2000;232:37-8
90. Galassi F, Sodi A, Renieri G, et al. Effects of timolol and dorzolamide on retrobulbar hemodynamics in patients with newly diagnosed primary open-angle glaucoma. *Ophthalmologica* 2002;216:123-8
91. Galassi F, Sodi A, Ucci F, et al. Ocular haemodynamics and glaucoma prognosis. A study by means of color doppler imaging. *Arch Ophthalmol* 2003;121:1711-5
92. Galassi F, Renieri G, Sodi A, et al. Nitric oxide proxies and ocular perfusion pressure in primary open angle glaucoma. *Br J Ophthalmol* 2004;88:757-60
93. Galassi F. Fisiologia dell'emodinamica oculare. In: Il glaucoma. Gandolfi S ed; Fidenza, 2005, pp.39-45

94. Galassi F, Masini E, Giambene B, et al. A topical nitric oxide-releasing dexamethasone derivative: effects on intraocular pressure and ocular haemodynamics in a rabbit glaucoma model. *Br J Ophthalmol* 2006;90:1414-9
95. Galassi F, Giambene B, et al. Retrobulbar hemodynamics and corneal surface temperature in glaucoma surgery. *Int Ophthalmol* 2007;*in press*
96. Galassi F, Giambene B, Menchini U. Ocular perfusion pressure and retrobulbar haemodynamics in pseudoexfoliative glaucoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2007;*in press*
97. Gao H, Qiao X, Cantor LB, et al. Up-regulation of brain-derived neurotrophin factor expression by brimonidine in rat retinal ganglion cells. *Arch Ophthalmol* 2002;120:797-803
98. Gass A, Flammer J, Linder L, et al. Inverse correlation between endothelin-1-induced peripheral microvascular vasoconstriction and blood pressure in glaucoma patients. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1997;235:634-8
99. Gasser P, Flammer J. Influence of vasospasm on visual function. *Doc Ophthalmol* 1987;66:3-18
100. Gasser P. Capillary blood flow velocity in finger nailfold: characteristics and reproducibility of the local cold response. *Microvasc Res* 1990;40:29-35
101. Gasser P, Flammer J. Blood-cell velocity in the nailfold capillaries of patients with normal-tension and high-tension glaucoma. *Am J Ophthalmol* 1991;111:585-8
102. Gayraud M. Raynaud's phenomenon. *Joint Bone Spine* 2007;74:e1-e8
103. Generini S, Seibold JR, Matucci-Cerinic M. Estrogens and neuropeptides in Raynaud's phenomenon. *Rheum Dis Clin North Am* 2005;31:177-86
104. Gherghel D, Orgul S, Gugleta K, et al. Relationship between ocular perfusion pressure and retrobulbar blood flow in patients with glaucoma with progressive damage. *Am J Ophthalmol* 2000;130:597-605
105. Gherghel D, Orgul S, Gugleta K, et al. Retrobulbar blood flow in glaucoma patients with nocturnal over-dipping in systemic blood pressure. *Am J Ophthalmol* 2001;132:641-7
106. Gherghel D, Hosking SL, Cunliffe IA. Abnormal systemic and ocular vascular response to temperature provocation in primary open-angle glaucoma patients: a case for autonomic failure? *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:3546-54
107. Gidday JM, Zhu Y. Endothelium-dependent changes in retinal blood flow following ischemia. *Curr Eye Res* 1998;17:798-807
108. Girardin F, Orgul S, Erb C, et al. Relationship between corneal temperature and finger temperature. *Arch Ophthalmol* 1999;117:166-9

109. Girkin CA, McGwin G, McNeal SF, et al. Hypothyroidism and the development of open-angle glaucoma in a male population. *Ophthalmology* 2004; 111:1649-52
110. Goldberg I, Hollows FC, Kass MA, et al. Systemic factors in patients with low-tension glaucoma. *Br J Ophthalmol* 1981;65:56-62
111. Golubnitschaja O, Yeghiazaryan K, Liu R, et al. Increased expression of matrix metalloproteinases in mononuclear blood cells of normal-tension glaucoma patients. *J Glaucoma* 2004; 13:66-72
112. Graham SL, Drance SM, Wijsman K, et al. Ambulatory blood pressure monitoring in glaucoma. The nocturnal dip. *Ophthalmology* 1995;102:61-9
113. Graham SL, Drance SM. Nocturnal hypotension: role in glaucoma progression. *Surv Ophthalmol* 1999;43 Suppl 1:S10-6
114. Griffiths LR, Nyholt DR, Curtain RP, et al. Migraine association and linkage studies of an endothelial nitric oxide synthase (NOS3) gene polymorphism. *Neurology* 1997;49:614-7
115. Grunwald JE, Iannaccone A, DuPont J. Effect of isosorbide mononitrate on the human optic nerve and choroidal circulations. *Br J Ophthalmol* 1999;83:162-7
116. Grunwald JE, Piltz J, Hariprasad SM, et al. Optic nerve blood flow in glaucoma: effect of systemic hypertension. *Am J Ophthalmol* 1999;127:516-22
117. Grus FH, Jochim SC, Hoffmann EM, et al. Complex autoantibody repertoires in patients with glaucoma. *Mol Vis* 2004;10:132-7
118. Gupta N, Yücel YH. Brain changes in glaucoma. *Eur J Ophthalmol* 2003;13:S32-5
119. Guthauser U, Flammer J, Mahler F. The relationship between digital and ocular vasospasm. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1988;226:224-6
120. Haefliger IO, Flammer J, Lüscher TF. Nitric oxide and endothelin-1 are important regulators of human ophthalmic artery. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992;33:2340-3
121. Haefliger IO, Flammer J, Lüscher TF. Heterogeneity of endothelium-dependent regulation in ophthalmic and ciliary arteries. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1993;34:1722-30
122. Haefliger IO, Meyer P, Flammer J, et al. The vascular endothelium as a regulator of the ocular circulation: a new concept in ophthalmology? *Surv Ophthalmol* 1994;39:123-32
123. Haefliger IO, Dettmann E, Liu R, et al. Potential role of nitric oxide and endothelin in the pathogenesis of glaucoma. *Surv Ophthalmol* 1999;43:S51-8
124. Haefliger IO, Flammer J, Bény JL, et al. Endothelium-dependent vasoactive modulation in the ophthalmic circulation. *Prog Retin Eye Res* 2001;20:209-25
125. Hallemeesch MM, Lamers WH, Deutz NE. Reduced arginine availability and nitric oxide production. *Clin Nutr* 2002;21:273-9

- 126.Harris A, Sergott RC, Spaeth GL, et al. Color Doppler analysis of ocular vessel blood velocity in normal-tension glaucoma. *Am J Ophthalmol* 1994;118:642-9
- 127.Harris A, Arend O, Kagemann L, et al. Dorzolamide, visual function and ocular hemodynamics in normal-tension glaucoma. *J Ocul Pharmacol Ther* 1999;15:189-97
- 128.Harris A, Harris M, Biller J, et al. Aging affects the retrobulbar circulation differently in women and men. *Arch Ophthalmol* 2000;118:1076-80
- 129.Harris A, Jonescu-Cuypers C, Martin B, et al. Simultaneous management of blood flow and IOP in glaucoma. *Acta Ophthalmol Scand* 2001;79:336-41
- 130.Hasegawa H, Hiki K, Sawamura T, et al. Purification of a novel endothelin-converting enzyme specific for big ET-3. *FEBS Lett* 1998;428:304-8
- 131.Hayreh SS, Bill A, Sperber GO: Effects of high intraocular pressure on the glucose metabolism in the retina and optic nerve in old atherosclerotic monkeys. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1994;32:745-52
- 132.Hayreh SS, Zimmerman MB, Podhajsky P, et al. Nocturnal arterial hypotension and its role in optic nerve head and ocular ischemic disorders. *Am J Ophthalmol* 1994;117:603-24
- 133.Hayreh SS, Podhajsky P, Zimmerman MB. Beta-blocker eyedrops and nocturnal arterial hypotension. *Am J Ophthalmol* 1999;128:301-9
- 134.Heijl A. Frequent disc photography and computerized perimetry in eyes with optic disc haemorrhage: a pilot study. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1986;64:274-81
- 135.Heijl A, Leske MC, Bengtsson B, et al. Reduction of intraocular pressure and glaucoma progression: results from the Early Manifest Glaucoma Trial. *Arch Ophthalmol* 2002;120:1268-79
- 136.Hendrickx KH, van den Enden A, Rasker MT, et al. Cumulative incidence of patients with disc hemorrhages in glaucoma and the effect of therapy. *Ophthalmology* 1994;101:1165-72
- 137.Henry E, Newby DE, Webb DJ, et al. Peripheral endothelial dysfunction in normal pressure glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40:1710-4
- 138.Henry E, Newby E, Webb DJ, et al. Altered endothelin-1 vasoreactivity in patients with untreated normal-pressure glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:2528-32
- 139.Hernandez MR. The optic nerve head in glaucoma: role of astrocytes in tissue remodeling. *Prog Retin Eye Res* 2000;19:297-321
- 140.Herrick AL. Pathogenesis of Raynaud's phenomenon. *Rheumatology* 2005;44:587-96
- 141.Hirata Y, Emori T, Educhi S, et al. Endothelin receptor subtype B mediates synthesis of nitric oxide by cultured bovine endothelial cells. *J Clin Invest* 1993;91:1367-73
- 142.Hitchings RA, Anderton SA. A comparative study of visual field defects seen in patients with low-tension glaucoma and chronic simple glaucoma. *Br J Ophthalmol* 1983;67:818-21

- 143.Hoste AM, Sys SU. Ca²⁺ channel-blocking activity of propranolol and betaxolol in isolated bovine retinal microartery. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998;32:390-6
- 144.Hoyng PF, de Jong N, Oosting H, et al. Platelet aggregation, disc haemorrhage and progressive loss of visual fields in glaucoma. A seven year follow-up study on glaucoma. *Int Ophthalmol* 1992; 16:65-73
- 145.Huber KK, Plange N, Arend O, et al. Colour Doppler imaging in normal pressure glaucoma. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2006;223:156-60
- 146.Hughes E, Spry P, Diamond J. 24-hour monitoring of intraocular pressure in glaucoma management: a retrospective review. *J Glaucoma* 2003;12:232-6
- 147.Iester M, Altieri M, Michelson G, et al. Intraobserver reproducibility of a two-dimensional mapping of the optic nerve head perfusion. *J Glaucoma* 2002;11:488-92
- 148.James CB, Smith SE. Pulsatile ocular blood flow in patients with low tension glaucoma. *Br J Ophthalmol* 1991;75:466-70
- 149.Janz NK, Wren PA, Lichter PR, et al, CIGTS Group. The Collaborative Initial Glaucoma Treatment Study (CIGTS): Interim Quality of Life Findings Following Initial Medical or Surgical Treatment of Glaucoma. *Ophthalmology* 2001;108:1954-65
- 150.Jonas JB, Xu L. Parapapillary chorioretinal atrophy in normal-pressure glaucoma. *Am J Ophthalmol* 1993;115:501-5
- 151.Jonas JB, Budde WM, Panda-Jonas S. Ophthalmoscopic evaluation of the optic nerve head. *Surv Ophthalmol* 1999;43:293-320
- 152.Jonas JB, Harazny J, Budde WM, et al. Optic disc morphometry correlated with confocal laser scanning Doppler flowmetry measurements in normal pressure glaucoma. *J Glaucoma* 2003;12:260-5
- 153.Jonas JB. Clinical implications of peripapillary atrophy in glaucoma. *Curr Opin Ophthalmol* 2005;16:84-8
- 154.Kahn HA, Leibowitz HM, Ganley JP, et al. The Framingham Eye Study. I. Outline and major prevalence findings. *Am J Epidemiol* 1977;106:17-32.
- 155.Kaiser HJ, Flammer J, Graf T, et al. Systemic blood pressure in glaucoma patients. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1993;231:677-80
- 156.Kaiser H, Flammer J, Wenk M, et al. Endothelin-1 plasma levels in normal tension glaucoma: abnormal response to postural changes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1995;233:484-8
- 157.Kaiser HJ, Flammer J, Messerli J. Vasospasm-A risk factor for nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy? *Neuro-ophthalmology* 1996;16:5-10

- 158.Kallberg ME, Brooks DE, Garcia-Sanchez GA, et al. Endothelin-1 levels in the aqueous humor of dogs with glaucoma. *J Glaucoma* 2002;11:105-9
- 159.Kamal D, Hitchings R. Normal tension glaucoma-a practical approach. *Br J Ophthalmol* 1998;82:835-40
- 160.Kashiwagi K, Tsumura T, Ishii H, et al. Circadian rhythm of autonomic nervous function in patients with normal-tension glaucoma compared with normal subjects using ambulatory electrocardiography. *J Glaucoma* 2000;9:239-46
- 161.Kiel JW. Endothelin modulation of choroidal blood flow in the rabbit. *Exp Eye Res* 2000;71:543-50
- 162.Kiowski W, Lüscher TF, Linder L, et al. Endothelin-1-induced vasoconstriction in humans. Reversal by calcium channel blockade but not by nitrovasodilators or endothelin-derived factors. *Circulation* 1991;83:469-75
- 163.Kiss B, Dallinger S, Polak K, et al. Ocular hemodynamics during isometric exercise. *Microvasc Res* 2001;61:1-13
- 164.Kitazawa Y, Shirato S, Yamamoto T. Optic disc hemorrhages in low-tension glaucoma. *Ophthalmology* 1986;93:853-7
- 165.Klaver JH, Greve EL, Goslinga H, et al. Blood and plasma viscosity measurements in patients with glaucoma. *Br J Ophthalmol* 1985; 69:765-70
- 166.Klein BE, Klein R. Intraocular pressure and cardiovascular risk variables. *Arch Ophthalmol* 1981;99:837-9
- 167.Klein BE, Klein R, Sponsel WE, et al. Prevalence of glaucoma. The Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology* 1992;99:1499:504
- 168.Klein BE, Klein R, Ritter LL. Relationship of drinking alcohol and smoking to prevalence of open-angle glaucoma. The Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology* 1993;100:1609-13
- 169.Kohn M, Yasunari K, Yokokawa K, et al. Inhibition by atrial and brain natriuretic peptides of endothelin-1 secretion after stimulation with angiotensin-2 and thrombin of cultured human endothelial cells. *J Clin Invest* 1991;87:1999-2004
- 170.Kondo Y, Niwa Y, Yamamoto T, et al. Retrobulbar hemodynamics in normal-tension glaucoma with asymmetric visual field change and asymmetric ocular perfusion pressure. *Am J Ophthalmol* 2000;130:454-60
- 171.Koseki N, Araie M, Shirato S, et al. Effect of non-surgical ocular hypotensive therapy in normal-tension glaucoma. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 1997;101:158-62
- 172.Koss MC. Functional role of nitric oxide in regulation of ocular blood flow. *Eur J Pharmacol* 1999;374:161-74

- 173.Koss MC. Effects of inhibition of nitric oxide synthase on basal anterior segment ocular blood flow and on potential autoregulatory mechanisms. *J Ocul Pharmacol Ther* 2001;17:319-29
- 174.Kotikoski H, Moilanen E, Vapaatalo H, et al. Biochemical markers of the L-arginine-nitric oxide pathway in the aqueous humor in glaucoma patients. *Acta Ophthalmol Scand* 2002;80:191-5
- 175.Kurita N, Tomidokoro A, Mayama C, et al. No apparent association between ocular perfusion pressure and visual field damage in normal-tension glaucoma patients. *Jpn J Ophthalmol* 2006;50:547-9
- 176.Lagrange F. Du glaucome et de l'hypotonie; leur traitement chirurgical. Librairie Octave Doin; Paris, 1922
- 177.Lamb FS, King CM, Harrell K, et al. Free radical-mediated endothelial damage in blood vessels after electrical stimulation. *Am J Physiol* 1987;252:H1041-H1046
- 178.Leibowitz HM, Krueger DE, Ma under LR, et al. The Framingham Eye Study monograph: An ophthalmological and epidemiological study of cataract, glaucoma, diabetic retinopathy, macular degeneration, and visual acuity in a general population of 2631 adults, 1973-1975. *Surv Ophthalmol* 1980;24:335-610
- 179.Lepple-Wienhues A, Stahl F, Willner U, et al. Endothelin-evoked contractions in bovine ciliary muscle and trabecular meshwork: interaction with calcium, nifedipina and nickel. *Curr Eye Res* 1991;10:983-9
- 180.Lepple-Wienhues A, Becker M, Stahl F, et al. Endothelin-like immunoreactivity in the aqueous humour and in conditioned medium from cultured ciliary epithelial cells. *Curr Eye Res* 1992;11:1041-6
- 181.Leske MC. The epidemiology of open-angle glaucoma: a review. *Am J Epidemiol* 1983;118:166-91
- 182.Leske MC, Connell AM, Wu SY, et al. Risk factors for open-angle glaucoma. The Barbados Eye Study. *Arch Ophthalmol* 1995;113:918-24
- 183.Leske CM, Heijl A, Hussein M, et al for the Early Manifest Glaucoma Trial Group. Factors for glaucoma progression and the effect of treatment. The Early Manifest Glaucoma Trial. *Arch Ophthalmol* 2003;1210:548-69
- 184.Leske MC, Connell AM, Wu SY, et al. Risk factors for open-angle glaucoma. The Barbados Eye Study. *Arch Ophthalmol* 1995;113:918-24
- 185.Leske MC, Heijl A, Hyman L, et al. Predictors of long-term progression in the early manifest glaucoma trial. *Ophthalmology* 2007;114:1965-72
- 186.Leske MC, Wu SY, Hennis A, et al. Risk factors for incident open-angle glaucoma. The Barbados Eye Studies. *Ophthalmology* 2007;*in press*

- 187.Lin HJ, Tsai CH, Tsai FJ, et al. Distribution of oxidation enzyme eNOS and myeloperoxidase in primary open angle glaucoma. *J Clin Lab Anal* 2005;19:87-92
- 188.Lip PL, Felmeden DC, Blann AD, et al. Plasma vascular endothelial growth factor, soluble VEGF receptor FLT-1, and von Willebrand factor in glaucoma. *Br J Ophthalmol* 2002;86:1299-302
- 189.Liu B, Neufeld AH. Expression of nitric oxide synthase-2 (NOS-2) in reactive astrocytes of the human glaucomatous optic nerve head. *Glia* 2000;30:178-86
- 190.Liu CJ, Ko YC, Cheng CY, et al. Effect of latanoprost 0.005% and brimonidine tartrate 0.2% on pulsatile ocular blood flow in normal tension glaucoma. *Br J Ophthalmol* 2002;86:1236-9
- 191.Liu JH. Diurnal measurement of intraocular pressure. *J Glaucoma* 2001;10:S39-41
- 192.Liu JH, Gokhale PA, Loving RT, et al. Laboratory assessment of diurnal and nocturnal ocular perfusion pressures in glaucoma. *J Ocul Pharmacol Ther* 2003;19:291-7
- 193.Logan JF, Rankin SJ, Jackson AJ. Retinal blood flow measurements and neuroretinal rim damage in glaucoma. *Br J Ophthalmol* 2004;88:1049-54
- 194.Logan JFJ, Chakravarthy U, Hughes AE, et al. Evidence for association of endothelial nitric oxide synthase gene in subjects with glaucoma and a history of migraine. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:3221-6
- 195.Luksch A, Polak K, Beier C, et al. Effects of systemic NO-synthase inhibition on choroidal and optic nerve head blood flow in healthy subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:3080-4
- 196.Lüscher TF, Vanhoutte PM. The endothelium: modulator of cardiovascular function. CRC Press, Boca Raton, FL, pp.1-228
- 197.MacCumber MW, Ross CA, Glaser BM, et al. Endothelin: visualization of mRNAs by in situ hybridization provides evidence for local action. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:7285-9
- 198.Marsault R, Feolde E, Frelin C. Receptor externalization determines sustained contractile responses to endothelin-1 in the rat aorta. *Am J Physiol* 1993;264:C687-C693
- 199.Martinez A, Sanchez M. Ocular haemodynamics in pseudoexfoliative and primary open-angle glaucoma. *Eye* 2006; *in press*
- 200.Martinez A, Sanchez M. Predictive value of colour Doppler imaging in a prospective study of visual field progression in primary open-angle glaucoma. *Acta Ophthalmol Scand* 2005;83:716-22
- 201.Mayes MD. Endothelin and endothelin receptor antagonists in systemic rheumatic disease. *Arthritis Rheum* 2003;48:1190-9

202. McLeod SD, West SK, Quigley HA, et al. A longitudinal study of the relationship between intraocular and blood pressures. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990;31:2361-6
203. McWhae JA, Andrews DM. Transient corneal opacification induced by cold in Raynaud's disease. *Ophthalmology* 1991;98:666-9
204. Membrey WL, Poinoosawmy DP, Bunce C, et al. Glaucoma surgery with or without adjunctive antiproliferatives in normal tension glaucoma: 1 Intraocular pressure control and complications. *Br J Ophthalmol* 2000;84:586-90
205. Membrey WL, Bunce C, Poinoosawmy DP, et al. Glaucoma surgery with or without adjunctive antiproliferatives in normal tension glaucoma: 2 Visual field progression. *Br J Ophthalmol* 2001;85:696-701
206. Messerli J, Flammer J. Central vein thrombosis in younger patients. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 1996;208:303-5
207. Meyer P, Flammer J, Lüscher TF. Endothelium-dependent regulation of the ophthalmic microcirculation in the perfused porcine eye: role of nitric oxide and endothelins. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1993;34:3614-21
208. Meyer P, Champion C, Schlötzer-Schrehardt U, et al. Localization of nitric oxide synthase isoforms in porcine ocular tissues. *Curr Eye Res* 1999;18:375-80
209. Mitchell P, Wang JJ, Smith W. Association of exfoliation syndrome with increased vascular risk. *Am J Ophthalmol* 1997;124:685-7
210. Mitchell P, Lee AJ, Rohtchina E, et al. Open-angle glaucoma and systemic hypertension: the blue mountains eye study. *J Glaucoma* 2004;13:319-26
211. Moore PK, Babbedge RC, Wallace P, et al. 7-Nitroindazole, an inhibitor of nitric oxide synthase, exhibits antinociceptive activity in the mouse without increasing blood pressure. *Br J Pharmacol* 1993;108:296-7
212. Moore WM, Webber RK, Jerome GM, et al. L-N⁶-(1-iminoethyl)lysine: a selective inhibitor of inducible nitric oxide synthase. *J Med Chem* 1994;37:3886-8
213. Morgan JE. Optic nerve head structure in glaucoma: astrocytes as mediators of axonal damage. *Eye* 2000;14:437-44
214. Muñoz-Negrete FJ, Rebolledo G, Almodóvar F, et al. Hypothyroidism and primary open-angle glaucoma. *Ophthalmologica* 2000;214:347-9
215. Nakayama M, Yasue H, Yoshimura M, et al. T-⁷⁸⁶-C mutation in the 5' flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm. *Circulation* 1999;99:2864-70
216. Nathan C, Xie QW. Regulation of the biosynthesis of nitric oxide. *J Biol Chem* 1994;269:13725-8

- 217.Nathanson JA, McKee M. Identification of an extensive system of nitric oxide-producing cells in the ciliary muscle and outflow pathway of the human eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995;36:1765-73
- 218.Nathanson JA, McKee M. Alterations of ocular nitric oxide synthase in human glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995;36:1774-84
- 219.Netland PA, Chaturvedi N, Dreyer EB. Calcium channel blockers in the management of low-tension and open-angle glaucoma. *Am J Ophthalmol* 1993;115:608-13
- 220.Neufeld AH, Hernandez R, Gonzales M. Nitric oxide synthase in the human glaucomatous optic nerve head. *Arch Ophthalmol* 1997;115:497-503
- 221.Neufeld AH, Shareef S, Pena J. Cellular localization of neuronal nitric oxide synthase (NOS-1) in the human and rat retina. *J Comp Neurol* 2000;4:269-75
- 222.Nguyen TD, Chen P, Huang WD, et al. Gene structure and properties of TIGR, an olfactomedin-related glycoprotein cloned from glucocorticoid-induced trabecular meshwork cells. *J Biol Chem* 1998; 273:6341-50
- 223.Nicolela MT, Hnik P, Drance SM. Scanning laser Doppler flowmeter study of retinal and optic disk blood flow in glaucomatous patients. *Am J Ophthalmol* 1996;122:775-83
- 224.Nicolela MT, Hnik P, Schulzer M, et al. Reproducibility of retinal and optic nerve head blood flow measurements with scanning laser Doppler flowmetry. *J Glaucoma* 1997;6:157-64
- 225.Nicolela MT, Ferrier SN, Morrison CA, et al. Effect of cold-induced vasospasm in glaucoma: the role of endothelin-1. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:2565-72
- 226.Nilsson SF. The significance of nitric oxide for parasympathetic vasodilation in the eye and other orbital tissues in the cat. *Exp Eye Res* 2000;70:61-72
- 227.[No authors listed] Comparison of glaucomatous progression between untreated patients with normal-tension glaucoma and patients with therapeutically reduced intraocular pressures. Collaborative Normal-Tension Glaucoma Study. *Am J Ophthalmol* 1998;126:487-97
- 228.Noecker RS, Dirks MS, Choplin NT, et al. A six-month randomized clinical trial comparing the intraocular pressure-lowering efficacy of bimatoprost and latanoprost in patients with ocular hypertension or glaucoma. *Am J Ophthalmol* 2003;135:55-63
- 229.Nouri-Mahdavi K, Hoffman D, Coleman AL, et al; Advanced Glaucoma Intervention Study. Predictive factors for glaucomatous visual field progression in the Advanced Glaucoma Intervention Study. *Ophthalmology* 2004;111:1627-35
- 230.Nucci C, Morrone L, Rombolà L, et al. Multifaceted roles of nitric oxide in the lateral geniculate nucleus: from visual signal transduction to neuronal apoptosis. *Toxicology Letters* 2003;139:163-73

- 231.Ohta K, Hirata Y, Imai T, et al. Cytokine-induced release of endothelin-1 from porcine renal epithelial cell line. *Biochem Biophys Res Commun* 1990;169:578-84
- 232.Oku H, Sugiyama T, Kojima S, et al. Experimental optic cup enlargement caused by endothelin-1-induced chronic optic nerve head ischemia. *Surv Ophthalmol* 1999;44:S74-84
- 233.Ong K, Farinelli A, Billson F, et al. Comparative study of brain magnetic resonance imaging findings in patients with low-tension glaucoma and control subjects. *Ophthalmology* 1995;102:1632-8
- 234.Orgül S, Prünke C, Flammer J. Endothelium-derived vasoactive substances relevant to normal-tension glaucoma. *Curr Opin Ophthalmol* 1998;9:88-94
- 235.Orgül S, Flammer J. Perilimbal aneurysms of conjunctival vessels in glaucoma patients. *Ger J Ophthalmol* 1995;4:94-6
- 236.Orgül S, Gugleta K, Flammer J. Physiology of perfusion as it relates to the optic nerve head. *Surv Ophthalmol* 1999;43:S17-26
- 237.Orzalesi N, Rossetti L, Omboni S; OPTIME Study Group; CONPROSO. Vascular risk factors in glaucoma: the results of a national survey. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2007;245:795-802
- 238.Osborne NN, Ugarte M, Chao M, et al. Neuroprotection in relation to retinal ischemia and relevance to glaucoma. *Surv Ophthalmol* 1999;43:S102-S128
- 239.Pache M, Flammer J. A Sick Eye in a Sick Body? Systemic Findings in Patients with Primary Open-angle Glaucoma. *Surv Ophthalmol* 2006;51:179-212
- 240.Palmer RMJ, Rees DD, Ashton DS, et al. L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. *Biochem Biophys Res Commun* 1988;153:1251-6
- 241.Pang IH, Yorio T. Ocular actions of endothelins. *Proc Soc Exp Biol Med* 1997;215-21:34
- 242.Park KH, Tomita G, Liou SY, et al. Correlation between peripapillary atrophy and optic nerve damage in normal-tension glaucoma. *Ophthalmology* 1996;103:1899-906
- 243.Phelps CD, Corbett JJ. Migraine and low-tension glaucoma. A case-control study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1985;26:1105-8
- 244.Pillunat LE, Stodtmeister R, Marquardt R, et al. Ocular perfusion pressures in different types of glaucoma. *Int Ophthalmol* 1989;13:37-42
- 245.Powell BL, Toomes C, Scott S, et al. Polymorphisms in OPA1 are associated with normal tension glaucoma. *Mol Vis* 2003;9:460-4
- 246.Prasanna G, Dibas A, Finkley A, et al. Identification of endothelin converting enzyme-1 in human non-pigmented ciliary epithelial cells. *Exp Eye Res* 1999;69:175-83

247. Prasanna G, Narayan S, Krishnamoorthy R, et al. Optic nerve head astrocytes: a potential target for endothelin-1 in glaucoma? *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:S743
248. Prasanna G, Narayan S, Krishnamoorthy RR, et al. Eyeing endothelins: A cellular perspective. *Mol Cell Biochem* 2003;253:71-88
249. Prunte C, Flammer J. Mikrozirkulationsstörungen als pathogenetischer Faktor des Glaukom-wird der Verdacht zur Gewissheit? In: Das Glaukom in der Praxis. Prunte C, Flammer J eds; Karger Verlag, Basel, 1997, pp. 39-52
250. Quaranta L, Manni G, Donato F, et al. The effect of increased intraocular pressure on pulsatile ocular blood flow in low tension glaucoma. *Surv Ophthalmol* 1994;38:S177-81
251. Quaranta L, Harris A, Donato F, et al. Color Doppler imaging of ophthalmic artery blood flow velocity: a study of repeatability and agreement. *Ophthalmology* 1997;104:653-8
252. Quaranta L, Bettelli S, Uva MG, et al. Effect of Gingko biloba extract on preexisting visual field damage in normal tension glaucoma. *Ophthalmology* 2003;110:359-62
253. Quaranta L, Galassi F. Semeiologia dell'emodinamica oculare. In: Il glaucoma. Gandolfi S ed; Fidenza, 2005, pp.195-202
254. Quaranta L, Gandolfo F, Turano R, et al. Effects of topical hypotensive drugs on circadian IOP, blood pressure, and calculated diastolic ocular perfusion pressure in patients with glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:2917-23
255. Rankin SJ. Color Doppler imaging of the retrobulbar circulation in glaucoma. *Surv Ophthalmol* 1999;43:S176-82
256. Rees DD, Palmer RMJ, Schulz R, et al. Characterization of three inhibitors of endothelial nitric oxide synthase in vivo and in vitro. *Br J Pharmacol* 1990;101:746-52
257. Rezaie T, Child A, Hitchings R, et al. Adult-onset primary open-angle glaucoma caused by mutations in optineurin. *Science* 2002;295:1077-9
258. Riva CE, Sinclair SH, Grunwald JE. Autoregulation of retinal circulation in response to decrease of perfusion pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1981;21:34-8
259. Riva CE, Hero M, Titze P, et al. Autoregulation of human optic nerve head blood flow in response to acute changes in ocular perfusion pressure. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1997;235:618-26
260. Saccà SC, Rolando M, Marletta A, et al. Fluctuations of intraocular pressure during the day in open-angle glaucoma, normal-tension glaucoma and normal subjects. *Ophthalmologica* 1998;212:115-9
261. Sacca S. Nitric oxide as a mediator of glaucoma pathogenesis. *Med Sci Monit* 2002;8:LE41-LE42
262. Sakurai T, Yanagisawa M, Masaki T. Molecular characterization of endothelin receptors. *Trends Pharmacol Sci* 1992;103-8

- 263.Sawada A, Kitazawa Y, Yamamoto T, et al. Prevention of visual field defect progression with brovincamine in eyes with normal-tension glaucoma. *Ophthalmology* 1996;103:283-8
- 264.Schmetterer L, Krejcy K, Kastner J, et al. the effect of systemic nitric oxide-synthase inhibition on ocular fundus pulsations in man. *Exp Eye Res* 1997;64:305-12
- 265.Schmetterer L, Polak K. Role of nitric oxide in the control of ocular blood flow. *Prog Retin Eye Res* 2001;20:823-47
- 266.Schmidt KG, Ruckmann AV, Mittag TW, et al. Reduced pulse amplitude in low tension glaucoma is independent of vasospasm. *Eye* 1997;11:485-8
- 267.Schuman JS, Erickson K, Nathanson JA. Nitrovasodilator effects on intraocular pressure and outflow facility in monkeys. *Exp Eye Res* 1994;58:99-105
- 268.Schulzer M. Intraocular pressure reduction in normal-tension glaucoma patients. The Normal Tension Glaucoma Study Group. *Ophthalmology* 1992;99:1468-70
- 269.Secades JJ, Frontera G. CDP-choline: pharmacological and clinical review. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 1995;17 Suppl B:1-54
- 270.Sehi M, Flanagan JG, Zeng L, et al. Relative change in diurnal mean ocular perfusion pressure: a risk factor for the diagnosis of primary open-angle glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:561-7
- 271.Shiose Y, Kitazawa Y, Tsukahara S, et al. Epidemiology of glaucoma in Japan-a nationwide glaucoma survey. *Jpn J Ophthalmol* 1991;35:133-55
- 272.Soltau JB. Glaucoma associated with systemic disease. *Clin Pathways Glaucom* 2001;16:351-401
- 273.Sommer A, Tielsch JM, Katz J, et al. Relationship between intraocular pressure and primary open angle glaucoma among white and black Americans. The Baltimore Eye Survey. *Arch Ophthalmol* 1991;109:1090-5
- 274.Sommer A. Glaucoma risk factors observed in the Baltimore Eye Survey. *Curr Opin Ophthalmol* 1996;7:93-8
- 275.Spaeth GL. Development of glaucomatous changes of the optic nerve. In: The Optic Nerve in Glaucoma. Varma R, Spaeth GL, Parker KW eds; JB Lippincott, Philadelphia, 1993, pp.63-81
- 276.Staessen JA, Fagard RH, Lijnen PJ, et al. Mean and range of the ambulatory pressure in normotensive subjects from a meta-analysis of 23 studies. *Am J Cardiol* 1991;67:723-7
- 277.Stitt AW, Chakravarthy U, Gardiner TA, et al. Endothelin-like immunoreactivity and receptor binding in the choroid and retina. *Curr Eye Res* 1996;15:111-7
- 278.Stroman GA, Stewart WC, Golnik KC, et al. Magnetic resonance imaging in patients with low-tension glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1995;113:168-72

- 279.Stuehr DH, Cho HJ, Kwon NS, et al. Purification and characterization of the cytokine-induced macrophage nitric oxide synthase: an FAD- and FMN-containing flavoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:7773-7
- 280.Sugiyama K, Haque MS, Okada K, et al. Intraocular pressure response to intravitreal injection of endothelin-1 and the mediatory role of ET_A receptor, ET_B receptor and cyclooxygenase products in rabbits. *Curr Eye Res* 1995;14:479-86
- 281.Sugiyama T, Moriya S, Oku H, et al. Association of endothelin-1 with normal tension glaucoma: clinical and fundamental studies. *Surv Ophthalmol* 1995;39:S49-56
- 282.Sugiyama T, Oku H, Ikari S, et al. Effect of nitric oxide synthase inhibitor on optic nerve head circulation in conscious rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:1149-52
- 283.Takagi H, Reinach PS, Tachado SD, et al. Endothelin-mediated cell signaling and proliferation in cultured rabbit corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994;35:134-42
- 284.Taniguchi T, Haque MSR, Sugiyama K, et al. Effects of endothelin A and B receptors on aqueous humor dynamics in the rabbit eye. *J Ocular Pharmacol Ther* 1996;12:123-30
- 285.Tezel G, Kass MA, Kolker AE, et al. Comparative optic disc analysis in normal pressure glaucoma, primary open-angle glaucoma, and ocular hypertension. *Ophthalmology* 1996;103:2105-13
- 286.The AGIS Investigators. The Advanced Glaucoma Intervention Study (AGIS): 7. The relationship between control of intraocular pressure and visual field deterioration. *Am J Ophthalmol* 2000;130:429-40
- 287.Tielsch JM, Katz J, Sommer A, et al. Hypertension, perfusion pressure, and primary open-angle glaucoma. A population-based assessment. *Arch Ophthalmol* 1995;113:216-21
- 288.Toda N, Nakanishi-Toda M. Nitric oxide: ocular blood flow, glaucoma, and diabetic retinopathy. *Prog Retin Eye Res* 2007;26:205-38
- 289.Tokunaga T, Kashiwagi K, Tsumura T, et al. Association between nocturnal blood pressure reduction and progression of visual field defect in patients with primary open-angle glaucoma or normal-tension glaucoma. *Jpn J Ophthalmol* 2004;48:380-5
- 290.Tranquart F, Bergès O, Koskas P, et al. Color Doppler imaging of orbital vessels: personal experience and literature review. *J Clin Ultrasound* 2003;31:258-73
- 291.Tunny TJ, Richardson KA, Clark CV. Association study of the 5' flanking regions of endothelial-nitric oxide synthase and endothelin-1 genes in familial primary open-angle glaucoma. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1998;25:26-9
- 292.Vickers JC, Craig JE, Stankovich J, et al. The apolipoprotein epsilon4 gene is associated with elevated risk of normal tension glaucoma. *Mol Vis* 2002;8:389-93

293. Virno M, Pecori-Giraldi J, Liguori A, et al. The protective effect of citicoline on the progression of the perimetric defects in glaucomatous patients (perimetric study with a 10-year follow-up). *Acta Ophthalmol Scand Suppl* 2000;232:56-7
294. Vorwerk CK, Hyman BT, Miller JW, et al. The role of neuronal and endothelial nitric oxide synthase in retinal excitotoxicity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38:2038-44
295. Vorwerk CK, Gorla MS, Dreyer EB. An experimental basis for implicating excitotoxicity in glaucomatous optic neuropathy [review]. *Surv Ophthalmol* 1999;43:S142-50
296. Waldmann E, Gasser P, Dubler B, et al. Silent myocardial ischemia in glaucoma and cataract patients. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1996;234:595-8
297. Wang JJ, Mitchell P, Smith W. Is there an association between migraine headache and open-angle glaucoma? Findings from the Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology* 1997;104:1714-9
298. Wang RF, Podos SM. Effect of the topical application of nitroglycerin on intraocular pressure in normal and glaucomatous monkeys. *Exp Eye Res* 1995;60:337-9
299. Wax MB, Tezel G, Saito I, et al. Anti-Ro/SS-A positivity and heat shock protein antibodies in patients with normal-tension glaucoma. *Am J Ophthalmol* 1998;125:145-57
300. Wiederholt M, Bielka S, Schweig F, et al. Regulation of outflow rate and resistance in the perfused anterior segment of the bovine eye. *Exp Eye Res* 1995;61:223-34
301. Wigley FM. Raynaud's phenomenon. *N Engl J Med* 2002;347:1001-8
302. Wilkinson-Berka JL. Vasoactive factors and diabetic retinopathy: vascular endothelial growth factor, cyclooxygenase-2 and nitric oxide. *Curr Pharm Des* 2004;10:3331-48
303. Williamson TH, Harris A. Color Doppler ultrasound imaging of the eye and the orbit. *Surv Ophthalmol* 1996;40:255-66
304. Wilson MR, Hertzmark E, Walker AM, et al. A case-control study of risk factors in open angle glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1987;105:1066-71
305. Wink DA, Miranda KM, Espey MG, et al. Mechanisms of the antioxidant effects of nitric oxide. *Antioxid Redox Signal* 2001;3:203-13
306. Wizemann A, Wizemann V. The use of organic nitrites to lower intraocular pressure in outpatient and surgical treatment. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 1980;177:292-5
307. Wood J, Garthwaite J. Models of the diffusional spread of nitric oxide: implications for neuronal nitric oxide signaling and its pharmacological properties. *Neuropharmacology* 1994;33:1235-44
308. Yamagami J, Araie M, Shirato S. A comparative study of optic nerve head in low- and high-tension glaucomas. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1992;230:446-50

- 309.Yamamoto T, Kitazawa Y. Vascular pathogenesis of normal-tension glaucoma: a possible pathogenetic factor, other than intraocular pressure, of glaucomatous optic neuropathy. *Prog Retin Eye Res* 1998;17:127-43
- 310.Yanagisawa M, Masaki T. Endothelin, a novel endothelium-derived peptide. Pharmacological activities, regulation and possible roles in cardiovascular control. *Biochem Pharmacol* 1989;38:1877-83
- 311.Yorio T, Krishnamoorthy R, Prasanna G. Endothelin: is it a contributor to glaucoma pathophysiology? *J Glaucoma* 2002;11:259-70
- 312.Yousufzai SYK, Ye Z, Abdel-Latif AA. Prostaglandins mediate the stimulatory effects of endothelin-1 on cAMP accumulation and inositol-1,4,5-triphosphate production and contraction in cat iris sphincter. *J Pharmacol Exp Ther* 1995;275:1280-7
- 313.Yuan L, Neufeld AH. Tumor necrosis factor- α a potentially neurodestructive cytokine produced by glia in the human glaucomatous optic nerve head. *Glia* 2000;32:42-50
- 314.Yücel YH, Zhang Q, Weinreb RN, et al. Effects of retinal ganglion cell loss on magno-, parvo-, koniocellular pathways in the lateral geniculate nucleus and visual cortex in glaucoma. *Prog Retin Eye Res* 2003;22:465-81
- 315.Zamora MR, O'Brien RF, Rutherford RB, et al. Serum endothelin-1 concentrations and cold provocation in primary Raynaud's phenomenon. *Lancet* 1990;336:1144-7
- 316.Zeitz O, Matthiessen ET, Wiermann A, et al. Ocular hemodynamics in normal tension glaucoma: effect of bimatoprost. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2004;221:550-4
- 317.Zeitz O, Matthiessen ET, Reuss J, et al. Effects of glaucoma drugs on ocular hemodynamics in normal tension glaucoma: a randomized trial comparing bimatoprost and latanoprost with dorzolamide. *BMC Ophthalmol* 2005;5:6
- 318.Zeitz O, Galambos P, Wagenfeld L, et al. Glaucoma progression is associated with decreased blood flow velocities in the short posterior ciliary artery. *Br J Ophthalmol* 2006;90:1245-8
- 319.Zhang B, Osborne NN. Oxidative-induced retinal degeneration is attenuated by epigallocatechin gallate. *Brain Res* 2006;1124:176-8
- 320.Zhang Y, Abdel-Latif AA. Activation of phospholipase D by endothelin-1 and other pharmacological agents in rabbit iris sphincter smooth muscle. *Cell Signal* 1992;4:777-86
- 321.Zweier JL, Kuppusamy P, Luty GA. Measurement of endothelial cell free radical generation: evidence for a central mechanism of free radical injury in postischemic tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988;85:4046-50

